

ESSAI

SUR LA

BIOLOGIE DE QUELQUES BACTÉRIES

THÈSE

Présentée et soutenue publiquement le 3 Novembre 1925

POUR OBTENIR LE TITRE DE

Docteur de l'Université

(MENTION PHARMACIE)

par

W. B. PALGEN

PHARMACIEN

Né à Echternach (Grand-Duché de Luxembourg), le 24 Juillet 1897

EXAMINATEURS DE LA THÈSE :

{ MM. BRÜNTZ, Professeur.
LASSEUR, Professeur.
VERNIER, Chargé de cours.

NANCY
IMPRIMERIE CAMILLE ANDRÉ
1, Boulevard Jean-Jaurès

1925



Digitized by the Internet Archive
in 2026

ESSAI

SUR LA

BIOLOGIE DE QUELQUES BACTÉRIES

THÈSE

Présentée et soutenue publiquement le 3 Novembre 1925

POUR OBTENIR LE TITRE DE

Docteur de l'Université

(MENTION PHARMACIE)

par

W. B. PALGEN

PHARMACIEN

Né à Echternach (Grand-Duché de Luxembourg), le 24 Juillet 1897

EXAMINATEURS DE LA THÈSE :

MM. BRUNTZ, Professeur.
LASSEUR, Professeur.
VERNIER, Chargé de Cours.

NANCY
IMPRIMERIE CAMILLE ANDRÉ
1, Boulevard Jean-Jaurès

1925

PERSONNEL ENSEIGNANT

DOYEN :

M. BRUNTZ, *, I O, O, **, *

ASSESEUR :

M. PASTUREAU, *, O.

PROFESSEURS :

MM. FAVREL, *, I O	Chimie organique.
DOURIS, O, **, *	Toxicologie et Analyse chimique.
SEYOT, *, I O, O	Histoire naturelle.
PASTUREAU, *, O	Pharmacie chimique.
GRÉLOT, *, I O, O	Pharmacie galénique.
BRUNTZ, *, I O, O, **, *	Matière médicale.
LASSEUR, I O, O	Microbiologie.

AGRÉGÉ LIBRE :

M. GIRARDET, I O..... Chimie et Toxicologie.

CHARGÉS DE COURS :

MM. FAVREL, *, I O	Chimie minérale et Minéralogie.
PILLOT, I O	Physique.
BRUNTZ, *, I O, O, **, *	Zoologie.
DOURIS, O, **, *	Chimie biologique.
GRÉLOT, *, I O, O	Hydrologie.
VERNIER, I O	Hygiène.
RENARD, I O	Législation et Déontologie.

CHEFS DE TRAVAUX :

MM. CORDEBARD, O, *	Toxicologie, Chimie, Analyse chimique.
PILLOT, I O, chargé de trav..	Physique.
GILLOT, I O, O	Pharmacie.
VERNIER, I O	Microbiologie et Parasitologie.
STEIMETZ	Micrographie.

SECRÉTARIAT :

MM. BERTRAND, I O, *	Secrétaire.
F. LAMBERT DES CILLEULS, *, O, I O	Secrétaire honoraire.
ROVEL, I O	Secrétaire en disponibilité

La Faculté a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui sont présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs, et qu'elle n'entend ni les approuver ni les imputer.



A MON FRÈRE SÉBASTIEN

A MONSIEUR LE PROFESSEUR BRUNTZ

DOYEN DE LA FACULTÉ DE PHARMACIE

RESPECTUEUX HOMMAGE DE RECONNAISSANCE

INTRODUCTION

En 1923, M. le Professeur LASSEUR m'a conseillé d'étudier en milieu synthétique la vie de certaines Bactéries du groupe *Subtilis-Mesentericus-Megatherium*.

Séduit par l'attrait de certaines questions auxquelles j'ai consacré la plus grande partie de mon temps, je n'ai suivi que très approximativement le plan initial proposé. Certains points, tels que la germination, n'ont même pas été effleurés. Mais les résultats obtenus dans d'autres parties compensent peut-être les points négligés.

Quoi qu'il en soit, je vais indiquer ci-dessous le mode d'exposition adopté dans ce mémoire.

Le chapitre premier est un résumé de quelques généralités sur les milieux synthétiques, j'attire l'attention sur la purification de l'eau et j'indique les raisons qui ont motivé le choix du matériel d'étude.

Lorsqu'on ensemence certaines spores en milieu synthétique, on est frappé de la facilité avec laquelle on peut mettre en évidence la membrane des bâtonnets germinatifs et des plastides adultes.

Et, on est ainsi conduit à étudier les variations de dimensions des germes *Subtilis-Mesentericus*. C'est l'objet du chapitre deuxième.

La forme d'une Bactérie est fonction du milieu où elle se développe. Par suite, les variations de formes se relient aux modifications du milieu nutritif. Nous

étudierons donc, dans le chapitre troisième, les aliments des Bactéries Subtilis-Mesentericus.

Parmi les éléments nécessaires à la vie bactérienne l'aliment minéral a surtout retenu notre attention.

Lorsqu'un germe est transporté dans un milieu favorable, un nombre considérable d'individus meurent, puis ceux qui ont résisté à ce transport dans le nouveau milieu se multiplient. Nous montrerons dans le chapitre quatrième, dans quelles limites les filtrats, provenant de très jeunes cultures, peuvent influencer favorablement l'adaptation à un milieu neuf.

Les microbes transformant le milieu où ils se développent « le rendent de moins en moins nutritif, de plus en plus antiseptique ». Il était donc intéressant d'étudier l'action nocive des filtrats provenant de cultures âgées. C'est l'objet du chapitre cinquième.

Le rôle capital des électrolytes dans la nutrition bactérienne laisse prévoir le pouvoir bactérien de l'eau distillée et le pouvoir antagoniste des électrolytes. C'est ce que nous préciserons dans le chapitre sixième.

Les électrolytes conditionnent la forme, les dimensions des bactéries, l'intensité de la croissance, la fonction chromogène ; il est donc à prévoir qu'ils exercent une action considérable dans certaines réactions sérologiques. Aussi, consacrons-nous le chapitre septième à la précipitation des plastides bactériennes par les agents chimiques.

Nos recherches ont été effectuées au Laboratoire de Microbiologie de la Faculté de Pharmacie de l'Université de Nancy.

M. le Professeur BRUNTZ, Doyen de la Faculté, nous

a accueilli avec la plus grande bienveillance et nous a constamment témoigné, durant notre séjour, le plus vif intérêt.

Nous le remercions sincèrement du grand honneur qu'il nous fait d'accepter la présidence de cette thèse.

Qu'il nous soit permis de lui exprimer ici l'hommage de nos respectueux et dévoués sentiments.

M. le Professeur LASSEUR a suivi pas à pas nos recherches, critiquant les moyens techniques utilisés, discutant ou interprétant les résultats obtenus. Que M. LASSEUR daigne accepter l'expression de notre vive reconnaissance. La meilleure partie de notre instruction dans le domaine de la Bactériologie, nous la lui devons ; il nous a initié aux recherches de Laboratoire et nous a montré, par son exemple et ses conseils, la nécessité de la précision. Il fut toujours pour nous un Maître bienveillant, nous consacrant avec un superbe désintéressement son temps si précieux. Nous rendons ici hommage à sa haute autorité scientifique, et nous l'assurons de notre respectueux attachement.

Nos sentiments de reconnaissance vont également à notre ancien Maître de Luxembourg, M. le Professeur KLEIN, qui a guidé d'une main heureuse nos premiers pas dans le vaste domaine de la Biologie, et qui nous a inculqué les connaissances fondamentales nous permettant de mener à bien le présent travail. Si les nécessités de l'existence nous éloignent de lui, nous aurons pour lui le culte du souvenir et la flamme perpétuelle de son enseignement éclairera toujours nos recherches futures.

C'est pour nous un agréable devoir d'adresser à M. le Docteur VERNIER, chargé du cours d'Hygiène à la Faculté, qui nous a toujours réservé le plus bienveillant accueil, l'expression de notre gratitude.

Merci à tous nos amis de la Faculté de Pharmacie, particulièrement à M. Paul MARTIN, qui, par leurs marques de sympathie et de bienveillance ont contribué à nous rendre très agréable notre séjour en Lorraine, et à nous faire considérer la France comme notre seconde Patrie.

CHAPITRE I

GÉNÉRALITÉS

Produits chimiques

Le rôle d'un élément dans la nutrition bactérienne ne peut être étudié que par l'emploi des milieux chimiquement définis.

Les admirables travaux de RAULIN (1870), ont montré l'influence considérable de traces de certains minéraux dans l'alimentation des êtres microscopiques.

Nous savons que certains produits chimiques, dits purs, renferment fréquemment des impuretés : or, dans ces produits, les impuretés atteignent souvent une concentration telle que les produits impurs apporteraient en eux un élément actif à une dose suffisante pour manifester son action physiologique.

Par suite, tous les produits utilisés dans nos recherches, ont été soigneusement purifiés par cristallisation.

Nous avons utilisé dans nos essais surtout les milieux synthétiques I et II de LASSEUR dont nous rappelons ici les formules:

MILIEU SYNTHÉTIQUE I DE LASSEUR

Eau distillée	100 gr.
Asparagine	0 gr. 90
Glycérine	2 gr. 50
Phosphate dipotassique	0 gr. 25
Sulfate de magnésie.....	0 gr. 50
Chlorure de calcium	0 gr. 04
Sulfate ferreux.....	0 gr. 01

MILIEU SYNTHÉTIQUE II DE LASSEUR

Eau distillée	100 gr.
Glycérine	2 gr.
Glucose	2 gr.
Asparagine	0 gr. 90
Succinate d'ammoniaque	0 gr. 10
Phosphate dipotassique.....	0 gr. 25
Sulfate de magnésie	0 gr. 50
Chlorure de calcium.....	0 gr. 04
Sulfate de fer.....	0 gr. 01

Par abréviation, je désignerai au cours de ce travail, les milieux synthétiques I et II de LASSEUR par les termes de milieu I L. et milieu II L.

Verrerie

Le verre pouvant être attaqué très fortement à 120°, la verrerie a été, elle aussi, l'objet de soins particuliers. Tout d'abord, nous n'avons utilisé que le

verre résistant à l'attaque de l'eau à 120° (LASSEUR et GIRARDET 1923). Cette verrerie neuve a été vieillie suivant la technique du Laboratoire de Microbiologie de la Faculté. Après chaque usage, les verres ont été lavés à l'eau ordinaire, puis à l'eau distillée, puis enfin traités par la vapeur d'eau à l'aide du dispositif de LASSEUR-GIRARDET.

Ne pouvant pas disposer d'une assez grande quantité de ballons, de flacons Erlenmeyer, etc., en quartz et en verre résistant, nous avons utilisé de gros tubes de 30 mm. de diamètre. Le liquide synthétique a été réparti à la dose de 5 cmc par tube. On sait, en effet, qu'il doit exister un certain rapport entre la surface libre du liquide et la hauteur du cylindre de liquide.

Les formes bactériennes étudiées proviennent de la collection LASSEUR et THIRY. Ces auteurs avaient réuni un assez grand nombre de formes (en 1912-1913) du groupe *Subtilis-Mesentericus* en s'adressant aux différents laboratoires du monde entier.

J'ai expérimenté sur :

B. mesentericus (FRAENCKEL à Halle-s.-S.) (1).

B. mesentericus niger (COURMONT à Lyon).

B. mesentericus niger (BEJERINCK, à Delft).

B. subtilis (LASSEUR et THIRY, à Nancy).

B. megatherium (CALMETTE, à Lille.)

(1) Les noms mis entre parenthèses indiquent l'origine primitive de ces souches bactériennes.

Pour des raisons de simplicité typographique, nous désignerons les différentes origines sous les termes suivants : *B. mesentericus* (FR.), pour *Bacillus mesentericus* (FRAENCKEL) ; *B. mesentericus niger* (B.), pour *Bacillus mesentericus niger* (BEJERINCK), *B. mesentericus niger* (C.), pour *Bacillus mesentericus niger* (COURMONT) ; *B. subtilis* (LA et T.), pour *Bacillus subtilis* (LASSEUR et THIRY) ; *B. megatherium* (CA.), pour *Bacillus megatherium* (CALMETTE).

L'aspect des cultures du groupe *Subtilis-Mesentericus* a été décrit par LASSEUR (1913), et ses collaborateurs THIRY (1913), BROQUIN-LACOMBE (1913).

Je me bornerai donc à rappeler les aspects successifs de ces cultures. D'ailleurs, il n'est pas superflu de voir comment se comportent, après 11 ans, les différentes souches d'une même espèce microbienne.

Les différents aspects cultureux des Bactéries du groupe *Subtilis-Mesentericus-Megatherium* peuvent être résumés dans le tableau suivant :

Culture en milieu Synthétique L I.

DÉSIGNATION DES BACTÉRIES		ASPECT DES CULTURES APRÈS			
		2 JOURS	5 JOURS	9 JOURS	12 JOURS
<i>B. mesentericus</i> (FRAENCKEL)	voile liquide	blanc jaune-rose	rose rose	rouge rouge	rouge brique rouge foncé
<i>B. mesentericus</i> <i>niger</i> (BEJERINCK)	voile liquide	blanc bleuâtre	ardoisé bleu-ciel	ardoisé-noir bleu p. réflex. viol. p. trans.	noir violet foncé jusqu'au noir
<i>B. mesentericus</i> <i>niger</i> (COURMONT)	voile liquide	blanc bleuâtre	ardoisé bleu-violet	ardoisé-noir bleu-violet foncé	noir bleu foncé jusqu'au noir
<i>B.</i> <i>megatherium</i> (CALMETTE)	voile liquide	blanc rosâtre	blanc nettement rose	rose rouge-violet	rouge rouge-violet foncé
<i>B. subtilis</i> (LASSEUR- THIRY)	voile liquide	blanc rosé	rose rose	rouge rouge-violet	rouge-foncé rouge-violet foncé
<i>B. pyocyaneus</i> (E.-A. GESSARD)	pellicule liquide	grise vert-clair	brune vert-brun	brune brun-foncé	brun-foncé brun-foncé

Remarquons qu'après de nombreux auteurs, nous avons eu l'occasion de confirmer l'influence de l'origine de la semence.

Les formes végétatives qui sont restées peu de temps sur un milieu constitué par des carottes ne se comportent pas toujours comme les spores qui ont séjourné des mois sur le même milieu.

D'ailleurs, c'est un fait bien connu « qu'un des importants facteurs de la production des races, c'est le temps ».

Lorsqu'une modification apparaît dans la plastide bactérienne, elle augmente de plus en plus avec le temps. C'est sur ce facteur et non pas seulement sur l'action de facteurs nuisibles (comme milieu épuisé, milieu peu nutritif, réaction, produits microbiens, passage par organisme supérieur), que repose la production des variétés dans les espèces bactériennes.

CHAPITRE II

DIMENSIONS DES BACTÉRIES

Ce que nous qualifions de « taille normale » d'un être vivant n'est autre chose qu'un état d'équilibre au-delà duquel se produisent des phénomènes inévitables, comme, par exemple, la division chez les organismes simples (BRACHET).

A cet état d'équilibre correspond une relation simple entre la longueur et la largeur (diamètre du cylindre) des bâtonnets bactériens.

A ce moment, nous pouvons écrire

$$\frac{L}{l} = K$$

L = longueur de la plastide,

l = largeur de la plastide.

Mais l'état d'équilibre n'est valable que pour des conditions déterminées ; si on fait varier les facteurs d'action dans des limites compatibles avec la vie de la Bactérie, on devra déplacer l'équilibre. (LASSEUR: *Cours de Microbiologie*).

LASSEUR considère trois plastides a , b , c , ayant respectivement les dimensions suivantes :

$$a = 2 L \times 2 l \quad \boxed{}$$

$$b = L \times l \quad \boxed{}$$

$$c = \frac{L}{2} \times \frac{l}{2} \quad \boxed{}$$

Dans les trois cas, nous avons :

$$\frac{2 L}{2 l} = K.$$

$$\frac{L}{l} = K.$$

$$\frac{\frac{L}{2}}{\frac{l}{2}} = K.$$

Si nous admettons que la plastide b correspond à la taille adulte le plus fréquemment observée, nous concluons que c est une forme en croissance, mais plus petite que a , qui est une forme géante ou une grande forme. Dans aucun cas pourtant, nous n'avons affaire à une forme d'involution.

Les trois formes a , b , c , sont l'image l'une de l'autre à un grossissement différent.

Par contre, une forme b' mesurant $L \times l'$ sera nettement différente du type normal.

Admettons qu'en b

$$L = 2 \mid \boxed{\overset{L}{}} \mid$$

Et en b'

$$L = 1' \boxed{\overset{L}{}} 1'$$

sans qu'il soit nécessaire d'insister davantage, on conçoit l'aspect fondamentalement différent des deux images que donnent les plastides b et b' . Avec cette conception des faits, la notion de polymorphisme se précisera et perdra beaucoup de sa fréquence, mais non de son intérêt.

L'étude doit être complétée par la statistique des formes. C'est le coefficient des fréquences.

Mais, dans les deux cas, les nombres obtenus n'auront de valeur qu'autant que l'on utilisera une méthode montrant nettement la membrane. Car, suivant qu'une cloison passera où ne passera pas inaperçue, et personne n'ignore combien la chose est facile avec les techniques usuelles des bactériologistes, on attribuera aisément L ou $2L$ à la longueur d'une même plastide bactérienne.

Nous avons donc recherché en quoi l'hypothèse de LASSEUR était fondée et quels services pourrait rendre sa notation.

Avant d'exposer nos résultats, nous résumons la technique utilisée :

TECHNIQUE

Nous avons examiné les cultures aux différents stades de leur développement.

Pour cela, nous avons effectué des prélèvements toutes les 24 heures. L'étalement a été effectué en couche aussi mince et aussi uniforme que possible, afin d'obtenir des plastides isolées dont on puisse percevoir très nettement les contours.

De tous les colorants utilisés, c'est la fuchsine formolée qui a donné les meilleurs résultats dans la coloration de la membrane.

Nous avons utilisé le bain colorant suivant :

7 parties d'une solution aqueuse de fuchsine à 0,3 %.

3 parties de formol (solution commerciale à 40%).

En faisant agir ce mélange durant 4-5 secondes, on colore très nettement les membranes et les cloisons.

Procédé de mensuration :

Nous avons utilisé l'échelle fractionnée proposée par LANGERON. Nous avons adopté le dispositif de LASSEUR, qui consiste dans l'emploi d'une échelle sur verre.

Espèces microbiennes étudiées :

Notre expérimentation a porté sur *B. mesentericus* (FR.), *B. mesentericus niger* (B.), *B. mesentericus niger* (C)., et *B. subtilis* (LA et T.).

Nous avons réuni dans les tableaux suivants les valeurs observées avec les différents germes :

**Dimensions des plastides de Bac. Mesentericus (Fr.)
sur milieu synthétique 1 L exprimées en μ**

AGE DE LA CULTURE	LONGUEUR			LARGEUR			RAPPORT			FRÉQUENCE : LONGUEUR		
	MIN.	MOY.	MAX.	MIN.	MOY.	MAX.	MIN.	MOY.	MAX.	MIN.	MOY.	MAX.
1 jour	2.10	4.18	6.00	0.65	0.72	1.00	3.23	5.80	6.00	7%	82%	11%
2 jours	1.50	2.90	3.80	0.65	0.70	1.00	2.30	4.14	3.80	8%	79%	13%
3 jours	1.50	2.80	3.30	0.65	0.75	0.90	2.30	3.73	3.66	15%	77%	8%
4 jours	1.30	2.20	2.90	0.65	0.75	0.90	2.00	2.93	3.22	7%	78%	15%
5 jours	1.30	2.10	2.90	0.65	0.75	0.85	2.00	2.80	3.41	8%	81%	11%
6 jours	1.30	1.90	3.00	0.65	0.75	0.85	2.00	2.53	3.52	10%	81%	9%
7 jours	1.30	1.80	2.30	0.65	0.75	0.85	2.00	2.40	2.70	9%	76%	15%
8 jours	1.20	1.50	2.30	0.65	0.75	0.85	1.84	2.00	2.70	11%	73%	16%
9 jours	1.20	1.45	2.00	0.65	0.75	0.80	1.84	1.93	2.50	25%	65%	10%

Dimensions des plastides de *Bac. Mesentericus niger* (B.)
sur milieu synthétique I L exprimées en μ

AGE DE LA CULTURE	LONGUEUR			LARGEUR			RAPPORT		L — l			FRÉQUENCE : LONGUEUR		
	MIN.	MOY.	MAX.	MIN.	MOY.	MAX.	MIN.	MOY.	MIN.	MOY.	MAX.	MIN.	MOY.	MAX.
1 jour	2.20	2.60	4.10	0.80	0.80	0.90	2.75	3.25	4.55	8%	74%	18%		
2 jours	2.10	2.60	3.90	0.80	0.80	0.90	2.62	3.25	4.33	7%	74%	19%		
3 jours	2.10	2.40	3.60	0.80	0.80	0.90	2.62	3.00	4.00	10%	75%	15%		
4 jours	2.00	2.40	3.60	0.70	0.75	0.85	2.85	3.20	4.23	13%	73%	14%		
5 jours	1.60	2.50	3.60	0.70	0.80	0.90	2.28	3.12	4.00	13%	70%	17%		
6 jours	1.60	2.35	2.70	0.70	0.80	0.85	2.28	2.93	3.17	15%	70%	15%		
7 jours	1.50	2.20	2.70	0.70	0.80	0.85	2.14	2.75	3.17	15%	75%	10%		
8 jours	1.30	2.20	2.80	0.70	0.80	0.85	1.85	2.75	3.29	20%	71%	9%		
9 jours	1.20	2.00	2.70	0.70	0.80	0.85	1.71	2.50	3.17	25%	67%	8%		

Dimensions des plastides de *Bac. Mesentericus niger* (C.)
sur milieu synthétique I L exprimées en μ

AGE DE LA CULTURE	LONGUEUR			LARGEUR			RAPPORT $\frac{L}{I}$			FRÉQUENCE : LONGUEUR		
	MIN.	MOY.	MAX.	MIN.	MOY.	MAX.	MIN.	MOY.	MAX.	MIN.	MOY.	MAX.
1 jour	1.70	2.30	4.00	0.55	0.60	0.90	3.09	3.83	4.44	8%	64%	28%
2 jours	1.50	2.10	3.50	0.50	0.60	0.85	3.00	3.50	4.11	16%	61%	23%
3 jours	1.30	1.80	2.80	0.45	0.55	0.65	2.88	3.27	4.30	14%	60%	26%
4 jours	1.30	1.80	2.70	0.45	0.55	0.65	2.88	3.27	4.15	15%	65%	20%
5 jours	1.20	1.70	2.50	0.45	0.55	0.65	2.66	3.09	3.85	14%	63%	23%
6 jours	1.20	1.40	1.90	0.45	0.50	0.60	2.66	2.80	3.16	18%	68%	14%
7 jours	1.20	1.40	1.90	0.45	0.50	0.60	2.66	2.80	3.16	23%	63%	14%
8 jours	1.10	1.30	1.90	0.45	0.50	0.60	2.44	2.60	3.16	26%	57%	17%
9 jours	1.10	1.15	1.90	0.45	0.45	0.50	2.44	2.55	3.16	24%	61%	15%

Dimensions des plastides de *Bac. Subtilis* (L.A. et T.)
sur milieu synthétique I L exprimées en μ

AGE DE LA CULTURE	LONGUEUR			LARGEUR			RAPPORT		$\frac{L}{I}$	FRÉQUENCE : LONGUEUR		
	MIN.	MOY.	MAX.	MIN.	MOY.	MAX.	MIN.	MOY.		MIN.	MOY.	MAX.
1 jour	2.30	3.50	4.90	0.90	1.00	1.20	2.55	3.50	4.08	15%	65%	20%
2 jours	2.20	3.40	4.80	0.90	1.00	1.20	2.44	3.40	4.00	18%	59%	23%
3 jours	2.00	3.00	4.00	0.85	0.90	1.00	2.35	3.33	4.00	23%	50%	27%
4 jours	1.75	2.30	3.80	0.75	0.80	0.90	2.33	2.87	4.22	13%	62%	25%
5 jours	1.75	2.30	3.80	0.75	0.80	0.90	2.33	2.87	4.22	16%	61%	23%
6 jours	1.70	2.30	3.60	0.75	0.80	0.90	2.26	2.87	4.00	12%	73%	15%
7 jours	1.60	2.30	3.60	0.75	0.80	0.90	2.13	2.87	4.00	15%	73%	12%
8 jours	1.60	2.25	3.30	0.75	0.80	0.90	2.13	2.81	3.66	19%	71%	10%
9 jours	1.60	2.25	3.15	0.75	0.80	0.90	2.13	2.81	3.50	18%	72%	10%

L'examen des rapports $\frac{L}{I}$ nous permet donc de nous rendre compte facilement et très rapidement dans quel sens évolue l'élément bactérien : raccourcissement ou allongement de la plastide bactérienne. En construisant une courbe avec les différentes valeurs trouvées pour $\frac{L}{I}$ on a, d'un simple coup d'œil,

une expression générale de la morphologie de la Bactérie.

Il nous était dès lors extrêmement facile d'étudier l'allongement ou le raccourcissement des plastides sous l'action d'agents chimiques divers. En raison du rôle que joue le sulfate de magnésie dans la vie des Bactéries chromogènes, nous avons étudié les variations morphologiques des différentes Bactéries en fonction de cet électrolyte.

Les résultats obtenus sont consignés dans le tableau ci-dessous.

**L'influence du $\text{SO}^4 \text{Mg.}$ sur la morphologie
en milieu synthétique I L**

CONCENTRATION EN $\text{SO}^4 \text{Mg.}$ %	RAPPORT ENTRE LA LONGUEUR ET LA LARGEUR DES PLASTIDES DE	
	<i>B. mesentericus</i> (FRAENCKEL)	<i>B. subtilis</i> (LASSEUR-THIRY)
0	7.1	6.23
0.05	6.9	6.33
0.10	6.88	6.00
0.20	6.37	5.83
0.40	5.46	4.18
0.50	5.20	4.08
0.70	5.20	3.72
0.90	4.42	3.88
1.00	4.28	4.00
3.00	3.57	4.00
4.00	3.57	3.71
5.00	3.53	3.66

L'examen de ce tableau nous montre donc ce fait intéressant que : l'addition de doses croissantes de sulfate de magnésie détermine le raccourcissement des plastides, par conséquent, augmente l'énergie de division.

CHAPITRE III

CULTURE EN MILIEU SYNTHÉTIQUE ALIMENT MINÉRAL

Pour se développer, un être vivant exige un aliment azoté hydrocarboné et minéral. Nous nous sommes limités à l'étude de l'aliment minéral parce qu'il est facile d'opérer avec des produits cristallisés de composition nettement définie. Nous avons étudié, en particulier, l'action du $\text{SO}^4 \text{ Mg}$ et du $\text{SO}^4 \text{ Fe}$. Notre expérimentation a tout d'abord porté sur *B. mesentericus* (FR.).

B. mesentericus (FR.) donne un voile solide, très résistant, susceptible de s'enlever d'une seule pièce et pouvant être lavé à l'eau sans se désagréger. De plus, *B. mesentericus* ne se développe qu'à la surface du liquide, dont toute la masse demeure limpide.

Il est dès lors très facile de peser la quantité de corps microbiens développés dans un milieu donné. C'est la raison pour laquelle ce germe est si fréquemment utilisé au Laboratoire du Professeur LASSEUR.

Pourvu d'un matériel très maniable, nous avons étudié l'action des électrolytes sur la végétation.

Pour tous ces essais, nous avons utilisé les produits purifiés de M. le Professeur LASSEUR.

L'action du sulfate de magnésium sur la croissance et le pouvoir chromogène de différentes bactéries est un fait connu ; mais les expériences manquent parfois de précision ; c'est pourquoi nous avons à nouveau étudié l'influence de cet électrolyte sur *B. mesentericus* (FR.). Tous nos essais ont été effectués en milieu synthétique I L.

Nous résumons ci-dessous les variations observées dans la production des corps microbiens lorsque le sulfate de magnésie varie de 0 à 500 milligr.

**Influence du sulfate de magnésie sur la végétation
de *Bac. mesentericus* (FR.)**

NUMÉROS DES EXPÉ- RIENCES	DATE DE LA RÉCOLTE DU VOILE	SULFATE DE MAGNÉSIE %	POIDS DE LA RÉCOLTE	RAPPORT : POIDS SANS SO ⁴ Mg POIDS AVEC SO ⁴ Mg
I	culture de 6 jours	0	0.046	1
		0.5	1.190	25.86
II	culture de 10 jours	0	0.125	1
		0.5	2.875	23.00
III	culture de 15 jours	0	0.093	1
		0.5	2.304	24.774
IV	culture de 21 jours	0	0.186	1
		0.5	3.273	17.58

Le chlorure de magnésium ne peut pas remplacer le sulfate de magnésium.

A doses faibles, variant de 0 gr., 05 à 0 gr., 2 %, le chlorure de magnésium s'oppose à la production des pigments. En outre, la végétation est très ralentie et s'accompagne de modifications morphologiques importantes. Aux formes normales succèdent des formes longues, filamenteuses, atteignant 7 à 8 μ de longueur.

Dès que la concentration en $Mg\ Cl^2$ atteint 0 gr, 3 pour cent, toute végétation cesse. Le chlorure de magnésium se révèle donc comme un antiseptique puissant vis-à-vis de *B. mesentericus* (FR.).

Il est à noter que le chlorure de calcium se comporte sensiblement comme le chlorure de magnésium. A la concentration de 0,3%, il s'oppose à la végétation du *B. mesentericus* (FR.).

Rapport entre le calcium et le magnésium

LOEB a montré que la toxicité d'un ion pouvait être neutralisée par un autre ion de charge convenable. Il est donc à prévoir que les différents éléments minéraux d'un milieu doivent être en proportions déterminées (LASSEUR : *Cours de Microbiologie.*)

Il nous a paru intéressant de rechercher le rapport qui doit exister entre le calcium et le magnésium. A cet effet, divers échantillons de milieu synthétique L 1, dépourvus de $SO^4\ Mg$, ont été additionnés de doses variables de $SO^4\ Mg$ et de $Ca\ Cl^2$.

Les différents milieux nutritifs ainsi réalisés ont été ensemencés avec la même quantité de germes de *B. mesentericus* (FR.). les cultures ont été placées à l'étuve à 37°.

La pesée de la récolte offre certaines difficultés, qui la rendent très longue. En effet, *B. mesentericus* (FR.) attaque l'asparagine avec production de NH^3 qui, en présence d'acide phosphorique et de magnésie, donne de gros cristaux de phosphate-ammoniacomagnésien, adhérant légèrement au voile par une de leur face.

Il faut donc débarrasser mécaniquement le voile de toutes ces formations cristallines, ou alors doser les cendres du voile.

Aussi, il nous a paru plus simple d'opérer de la façon suivante : Les liquides nutritifs ont été stérilisés dans des vases renfermant des billes de verre. Après ensemencement, les milieux ont été régulièrement agités, afin d'éviter la formation du voile et d'obtenir des cultures homogènes. Au bout de trente heures, nous avons prélevé des quantités connues de chaque culture ; sur ces parties prélevées, nous avons effectué la numération des germes vivants.

Ce procédé comporte évidemment de grandes causes d'erreur, mais le sens des nombres nous suffit et nous n'avons pas besoin, pour cette expérience, d'une plus grande précision. Une plus grande précision n'aurait eu son utilité que si nous avions déterminé, non pas les concentrations en Ca Cl^2 et $\text{SO}^4 \text{ Mg}$, mais les concentrations en ions Ca et en ions Mg .

Nous indiquons, ci-dessous, les numérations effectuées sur les différentes cultures.

NUMÉRATION : NOMBRE DE COLONIES			
SANS $\text{SO}^4 \text{Mg}^{(1)}$ SANS Ca Cl^2	AVEC $\text{SO}^4 \text{Mg}$ AVEC Ca Cl^2	SANS $\text{SO}^4 \text{Mg}$ AVEC Ca Cl^2	AVEC $\text{SO}^4 \text{Mg}$ SANS Ca Cl^2
EXPÉRIENCE I			
57	682	59	483
EXPÉRIENCE II			
18	427	17	387
EXPÉRIENCE III			
21	585	23	147

Or, si l'on fait varier la concentration de $\text{SO}^4 \text{Mg}$, on trouve qu'à une concentration de 1 gr. de $\text{SO}^4 \text{Mg}$, doit correspondre une dose de 0,07 à 0,1 de chlorure de calcium.

Mais il ne faut pas augmenter la dose de chlorure de calcium au-delà de 0,10 %, car alors le chlorure de calcium manifeste à son tour son action toxique, action qui n'est plus contrebalancée par $\text{SO}^4 \text{Mg}$. Il est, en somme, presque certain, que pour d'autres germes, on trouverait des concentrations différentes.

(1) Dans ces expériences, j'ai suivi la formule exacte du milieu synthétique I L, c'est-à-dire 0,5 % de $\text{SO}^4 \text{Mg}$., et 0,04 % de Ca Cl^2 .

Il résulte de ce que nous venons de voir que dans l'étude des milieux de culture, il faudra, non seulement chercher à réaliser une pression osmotique déterminée, mais encore tenir compte de la neutralisation des ions au sens de LOEB. Cette conception nouvelle se traduira par l'apport, dans les milieux, de quantités déterminées d'électrolytes qui, au premier abord, ne paraissent pas indispensables à la vie bactérienne.

**Influence du sulfate de magnésie sur la
croissance et la fonction chromogène des Bactéries
du groupe *Mesentericus-Subtilis***

Certains éléments nutritifs peuvent exalter la végétation tout en diminuant l'intensité de la fonction chromogène. Cependant, le plus souvent, l'intensité du pouvoir chromogène est fonction de l'activité végétative. Or, dans le cas qui nous intéresse, il ne sera pas toujours facile de séparer l'action sur la croissance de l'action sur la chromogénèse.

Cependant, nous allons étudier l'action du sulfate de magnésium :

1^o Sur la croissance proprement dite

2^o Sur la fonction chromogène des cultures.

Dans un but de simplification, nous n'indiquerons les aspects des cultures qu'à deux ou trois stades différents ; de même, nous ne relaterons que cinq concentrations, au lieu des quinze concentrations expérimentées.

TABLEAU I

**Action du sulfate de magnésie sur la coloration
des cultures de *Bacillus mesentericus* (Fr.)**

TENEUR DU MILIEU EN SULFATE DE MAGNÉSIE %		ASPECT DES CULTURES APRÈS	
		5 jours	12 jours
0	voile liquide	blanc incolore	légèrement rosâtre ou blanc incolore
0.1	voile liquide	blanc rosâtre	rosâtre rouge
0.5	voile liquide	blanc légèrem. rosâtre rose	rose ou rouge rouge
1	voile liquide	rose rose	rose au rouge rouge
5	voile liquide	rouge brique rouge vineux	rouge brique rouge violacé

TABLEAU II

**Action du sulfate de magnésie sur la coloration des cultures
de *Bacillus mesentericus niger* (B.)**

TENEUR DU MILIEU EN SULFATE DE MAGNÉSIE %		ASPECT DES CULTURES APRÈS		
		2 jours	7 jours	12 jours
0	voile liquide	blanc incolore	ardoisé violacé	gris violacé
0.1	voile liquide	blanc légère couleur vert-bleu	ardoisé bleu	noir noir
0.5	voile liquide	blanc vert-bleu	ardoisé bleu par réfring. violet par transpar.	noir noir
1	voile liquide	blanc violet-clair	noir bleu-foncé	noir noir foncé
5	voile liquide	ardoisé violet-bleuâtre	noir bleu foncé	noir noir foncé

En l'absence de magnésie, *B. mesentericus* (FR.) ne donne qu'une très faible quantité de pigments, quantité pouvant même être nulle. Le sulfate de magnésie exalte donc la fonction chromogène du germe considéré. Ce n'est là qu'une première approxima-

tion. En effet, lorsqu'on ensemence un milieu dépourvu de $\text{SO}^4 \text{Mg}$ avec des germes *Mesentericus* provenant d'un milieu contenant $\text{SO}^4 \text{Mg}$, on obtient, au bout d'un temps plus ou moins long, un voile rosé et un liquide incolore.

Si on effectue des séries de passages en milieu dépourvu de $\text{SO}^4 \text{Mg}$, on assiste à la diminution graduelle de la matière colorante et son apparition dans les cultures se fait de plus en plus tardivement.

On serait tenté d'expliquer ce phénomène par une sélection des éléments achromogènes de la cellule ou par une dégénérescence du pouvoir chromogène. Ces hypothèses sont inadmissibles.

En effet, considérons une culture effectuée sur milieu dépourvu de sulfate de magnésie. Cette culture, obtenue par une série de passages, est très peu colorée. Ensemençons cette culture achromogène sur un milieu renfermant du magnésium. On obtient de suite une culture colorée dont l'intensité chromogène est égale et souvent même supérieure à celle du type normal.

Le passage par milieu dépourvu de $\text{SO}^4 \text{Mg}$ n'a donc pas affaibli la fonction chromogène. L'absence de l'élément minéral s'oppose seulement à la manifestation de cette fonction bactérienne.

Considérons maintenant les tableaux I et II au point de vue de la date d'apparition des colorations dans les cultures.

Nous constatons que les colorations apparaissent d'autant plus hâtivement que la concentration en sulfate de magnésie est plus élevée.

Il y a même plus : des concentrations considérées comme toxiques pour la végétation apparaissent ici comme favorables à la production des pigments. Ce fait ne peut s'interpréter qu'en considérant la production des pigments comme la résultante d'action diastasique.

Afin de tenter d'élucider le mécanisme par lequel agit le sulfate de magnésie, nous avons essayé de remplacer le sulfate de magnésie par d'autres sels de magnésie : chlorure, nitrate, phosphate, citrate, carbonate, etc. Mais, dans aucun cas, nous n'avons pu obtenir de coloration des cultures.

De même, nous avons recherché sans succès à remplacer le sulfate de magnésie par des sulfates alcalins et alcalino-terreux.

L'action du sulfate de magnésie est donc spécifique.

Tout le monde sait que les plantes ont besoin de certains sels pour se développer. Mais, étant donnée la concentration à laquelle est utilisée le sulfate de magnésie, ce sel ne paraît pas agir uniquement comme élément nutritif. En effet, si le sulfate de magnésie intervenait uniquement comme aliment, des doses bien inférieures à celles utilisées suffiraient à assurer la végétation et la chromogénèse. Le sulfate de magnésie doit donc agir par un autre processus.

Après les travaux de LOEB sur la neutralisation des ions, on serait tenté d'attribuer l'action du sulfate de magnésie à un processus de neutralisation.

Le sulfate de magnésie joue certainement un rôle de neutralisation, mais là ne se borne pas son action.

Car, s'il en était ainsi, il suffirait de quantités de $\text{SO}^4 \text{Mg}$ infiniment plus petites que celles utilisées.

Le sulfate de magnésie agirait-il par ses impuretés, c'est là encore un point important à préciser.

En résumé, $\text{SO}^4 \text{Mg}$ joue un rôle d'agent catalyseur, il augmente la vitesse de réaction, mais il nous est impossible de préciser le mécanisme d'action.

Education de la semence

Nous avons eu l'occasion de vérifier l'influence bien connue de l'éducation de la semence (PASTEUR (1876), DUCLAUX (1898), GRIMBERT (1893), FITZ (1882), WASSERZUG (1877-1888), MAMELLE et GESSARD (1919), LASSEUR (1911-1913)).

Les Bacilles du groupe *Subtilis-Mesentericus* se développent facilement sur carottes. La sporulation y est normale. Or, si onensemence le milieu 1 avec des spores provenant de cultures sur carottes, on obtient toujours des cultures peu colorées.

Ce même milieu,ensemencé avec des spores provenant de cultures du même âge, mais effectuées sur gélose, donne de suite de belles colorations.

Des faits analogues ont été observés avec les formes végétatives provenant de souches ayant été toujours cultivées sur carottes.

Par passage sur milieu synthétique, on exalte jusqu'à un certain point la fonction chromogène, puis il y a régression de la fonction achromogène

(LASSEUR était arrivé à des conclusions analogues en 1913).

Ainsi, les souches cultivées durant 4 à 6 mois sur milieu synthétique produisent plus facilement du pigment que les souches ayant subi une série de passages alternatifs: milieu 1 L, milieu naturel, milieu 1 L, etc.

Age de la culture et coloration

La chromogénèse est influencée non seulement par la nature du milieu et l'origine de la semence, mais encore par l'âge de la culture d'où provient cette semence.

En effet, si nous ensemençons des tubes de milieu synthétique avec des cultures sur gélose de quelques jours, nous obtenons des colorations intenses et hâtives ; si, au contraire, nous utilisons des cultures de plusieurs mois, nous constatons que l'apparition de la coloration se fait beaucoup plus tardivement. Il n'y a qu'un retard dans la production du pigment et non une diminution dans la quantité produite. Seule, la vitesse de réaction est modifiée, le produit final reste le même dans les deux cas.

CHAPITRE IV

INFLUENCE des FILTRATS de CULTURES JEUNES SUR LA VÉGÉTATION

ACTION FAVORISANTE DES FILTRATS

Les microbes, transformant le milieu où ils se développent, « le rendent de moins en moins nutritif et de plus en plus antiseptique » (E. DUCLAUX, 1898).

Lorsqu'un germe se développe dans un milieu, il emprunte à ce milieu les éléments nécessaires à sa nutrition, il y a donc diminution de la concentration du substratum en aliment azoté, carboné et minéral. Mais la végétation s'arrête bien avant que tout l'aliment azoté et carboné ait disparu. MAMELLE (1921) a montré que le *Bac. pyocyaneus* se développe dans du bouillon dilué à 1/250.

Les modifications du milieu, la formation de produits volatils déterminent des variations de la pression osmotique. Mais ces deux facteurs ne suffisent pas à exprimer l'infertilité des vieilles cultures. Cette infertilité dépend surtout de l'accumulation « des produits microbiens » de E. DUCLAUX dans les cultures. Un produit microbien est une substance inattaquable

dans les conditions de l'expérience pour le microbe qui l'a fourni, mais qui peut redevenir alimentaire à son tour, si les conditions changent ou si le microbe acquiert des propriétés nouvelles.

En généralisant, nous disons un produit P de sécrétion ou d'excrétion d'une cellule C ne peut pas, sous la forme P, servir à l'alimentation de la cellule C. Ainsi, la levure produit de l'alcool dans les milieux sucrés ; à partir d'une certaine concentration, l'alcool s'oppose au développement de la levure.

La dislocation de l'hydrolyse de la molécule protéique, l'attaque des hydrates de carbone, déterminent des variations importantes en ions $H +$ et $OH -$.

Il est à remarquer que l'arrêt de la végétation est d'autant plus rapide que les microbes déterminent de plus grandes variations de réaction.

Ainsi, les Bacilles lactiques acidifient le milieu où ils se développent et, si cette acidité n'est pas neutralisée au fur et à mesure de sa formation, la végétation cessera dès que la teneur en acide lactique aura atteint une certaine valeur. On pourrait multiplier ces exemples à l'infini.

L'arrêt de la végétation par un produit microbien a conduit à une notion aussi inexacte qu'inattendue, celle des « milieux vaccinés ». Dans le milieu fertile par développement d'un germe, ce n'est pas le milieu qui a réagi, mais le germe qui a été l'élément actif, modificateur du milieu. Or, le peu que nous savons sur le mécanisme de la vaccination, ne nous permet pas de concevoir l'immunité comme la conséquence d'une action unilatérale, mais bien comme

la résultante des deux facteurs : organisme et parasite. Quoiqu'il en soit, l'expression de « milieux vaccinés » n'en reste pas moins très répandue, et nous devons la rappeler.

En résumé, tout le monde admet donc, depuis E. DUCLAUX (1898), qu'un milieu devient de moins en moins fertile à mesure qu'un germe s'y multiplie.

Par suite, les milieux neufs nous apparaissent comme les plus favorables à la végétation. Ce n'est qu'une première approximation.

En effet, soit un milieu neuf M bien approprié à un germe A. Transportons les éléments microbiens de A dans un volume V de M.

Mélangeons bien pour répartir tous les plastides bactériennes dans la masse du liquide.

Puis, faisons des prélèvements au bout de 1, 2, 5, 10, 15, 20, 30 minutes, et numérotions les germes microbiens dans chaque échantillon ainsi prélevé.

Nous constatons que le transport des germes A dans le milieu M dit très favorable, est suivi d'une mort en masse des plastides bactériennes. Cependant, un certain nombre de germes résistent à l'action bactéricide du milieu M et se multiplient ensuite très rapidement.

Dans les conditions habituelles de la pratique bactériologique, cette mort en masse passe inaperçue (sauf pour certaines Bactéries, qui exigent des ensemcements massifs), et, seule, la multiplication ultérieure est rendue objective soit par le trouble, soit par les voile, pellicule, etc., se formant à la surface libre des milieux de culture.

Il n'en est pas moins certain que dans les milieux neufs, il y a d'abord arrêt de la végétation et seulement ensuite multiplication.

Quelle explication peut-on donner à ces faits ?

Deux hypothèses sont possibles :

1^o Les germes doivent s'adapter au milieu. De toutes les plastides bactériennes ensemencées dans le milieu neuf, seul un très petit nombre est capable de vivre dans les conditions nouvelles et, par suite, de se multiplier.

2^o Le milieu neuf est bactéricide. Le pouvoir bactéricide est neutralisé ultérieurement, soit par des produits de la vie microbienne, soit par des éléments constitutifs du corps microbien.

Dans cette seconde hypothèse, des filtrats de culture très très jeunes devraient donc exercer une action favorisante sur la végétation.

Pour vérifier le bien fondé de cette seconde hypothèse, nous avons fait les expériences suivantes :

Un ballon, renfermant du milieu synthétique 1 L a été ensemencé avec une quantité déterminée de plastides de *B. mesentericus* (FR.).

Après des temps variables de 2, 4, 6, 8, 16, 24 et 30 heures, nous avons agité la culture pour répartir uniformément les plastides dans toute la masse liquide. Puis, après chaque homogénéisation, nous avons prélevé 50 cm³ de culture, que nous avons filtrés sur bougie L V.

Les filtrats ainsi obtenus ont été ensemencés avec une même quantité de *B. mesentericus* (FR.), et mis à l'étuve à 37°.

Pour déterminer l'intensité de la multiplication microbienne dans les différents filtrats, nous avons effectué la numération aussitôt après l'ensemencement, et après 2, 4, 8 et 24 heures.

La numération a été faite par ensemencement sur gélose de dilutions convenables des filtrats ensemencés.

Pour effectuer les dilutions, nous avons utilisé le liquide de RINGER, ce liquide étant moins bactéricide que l'eau physiologique, ainsi que nous le verrons plus loin.

Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau suivant :

NUMÉRATION APRÈS	FILTRATS PROVENANT DE CULTURES DE <i>B. mesentericus</i> FRAENKEL, AGÉES DE			TÉMOIN MILIEU NEUF
	2 heures	16 heures	30 heures	
qq. secondes.	63	62	71	54
2 heures ...	48	110	87	38
4 heures ...	81	397	361	97
8 heures ...	308	588	538	281
24 heures ...	3481	4481	4143	2462

Nous n'avons pas fait figurer les résultats relatifs aux filtrats provenant de cultures âgées de 4 et de 8 heures ; ces résultats étant rigoureusement superposables à ceux obtenus avec les filtrats de 2 heures.

L'examen de ce tableau montre que :

1^o Les filtrats de 2 heures sont moins toxiques que les milieux neufs.

2^o Avec les filtrats de 16 et 24 heures, on n'observe pas de destruction notable des Bactéries durant les premières heures de l'ensemencement. Si elle existe, elle est très faible, ou masquée par une multiplication intense.

Du fait que la cellule se multiplie, vit et meurt dans un milieu neuf, elle lui fait perdre sa toxicité.

On peut expliquer l'action favorisante des filtrats de différentes façons :

1^o La filtration a modifié la réaction du milieu (Action des parois poreuses.).

2^o La bougie a cédé au liquide filtrant des traces de substances favorisantes.

3^o Après leur mort les Bactéries laissent diffuser des substances favorables à la végétation.

4^o Les produits microbiens, à l'état de traces, pourraient jouer le rôle d'autocatalyseurs.

Pour vérifier le bien fondé de ces hypothèses, nous avons institué les expériences suivantes :

Contrôle des 1^{re} et 2^e hypothèses :

Du liquide non ensemencé a été filtré ; ce filtrat est ensemencé comme précédemment.

ENSEMENCEMENT EFFECTUÉ APRÈS	NUMÉRATION : NOMBRE DE COLONIES	
	MILIEU NON FILTRÉ	MILIEU FILTRÉ
2 minutes	82	63
4 heures	114	81
8 heures	439	311
24 heures	1569	1177

3^e hypothèse : Apport d'éléments nutritifs par les plastides mortes. On sait depuis fort longtemps que les cendres de levure favorisent la fermentation. Les glucoses massés renferment du phosphore organique. Or, ces glucoses sont beaucoup plus nutritifs que le glucose pur additionné de biphosphate ou de triphosphate. D'autre part, nous savons que les Bactéries peuvent laisser diffuser (POZERSKI, 1924) des composés phosphorés.

BORREL, BOLTZ et COULON (1923), ont montré que les filtrats de culture de *Bac. tuberculeux* activent la croissance de ce microorganisme.

Il n'y aurait donc rien de surprenant à ce que les plastides bactériennes puissent apporter des éléments stimulants de la végétation. Nous nous sommes efforcés de contrôler cette troisième hypothèse. L'expérimentation directe comportant quelques difficultés, nous avons procédé de la façon suivante : *B. mesen-*

tericus (FR.) est ensemencé en ballons sur milieu synthétique L 1. Au bout de 10 jours, le voile est recueilli, lavé dans 10 cm³ d'eau distillée stérile.

Puis le voile est transporté dans 50 cm³ d'eau distillée ; on laisse en contact durant 24 heures à la température de l'étuve.

On filtre sur bougie L. V et ce filtrat est additionné à du milieu neuf. Le mélange ainsi obtenu est ensemencé avec une quantité connue de germes microbiens. Puis, on effectue les numérations après des laps de temps variant de 2, 10, 15, 30, 60, 120 minutes à 4, 8, 24 et 30 heures.

Nous indiquerons dans le tableau ci-dessous une partie des résultats obtenus.

ENSEMENCEMENT EFFECTUÉ APRÈS	NUMÉRATION : NOMBRE DE COLONIES DÉVELOPPÉES SUR		TÉMOIN : MILIEU NEUF
	FILTRAT NON CHAUFFÉ	FILTRAT CHAUF- FÉ A 100° C.	
2 minutes ..	151	112	132
4 heures ...	208	124	114
8 heures ...	449	237	312
24 heures ...	2164	1267	1435

Les produits d'hydrolyse des corps bactériens de *B. mesentericus* (FR.), activent la végétation de ce germe en milieu synthétique.

Le chauffage à 100° C pendant 30 minutes détruit ce pouvoir activant.

Les produits d'hydrolyse de *B. mesentericus* (FR.) sont non seulement nutritifs pour ce germe, mais jouissent encore d'une action stimulante vis-à-vis de *Staphylococcus aureus*.

Ainsi que le montre le tableau suivant.

ENSEMENCEMENT EFFECTUÉ APRÈS	NUMÉRATION : NOMBRE DE COLONIES		TÉMOIN
	NON CHAUFFÉ	CHAUFFÉ A 100°	
2 minutes ..	33	62	45
4 heures ...	119	—	68
8 heures ...	292	208	189
24 heures ...	1865	1071	875

On peut mettre en évidence d'une autre façon le pouvoir nutritif du produit d'autolyse du voile de *B. mesentericus* (FR.). Pour cela, des quantités connues de filtrat pur, de filtrat dilué et d'eau distillée sontensemencées avec une même quantité de corps microbiens. Après des temps variant de deux minutes à vingt-quatre heures, on prélève un échantillon de ces liquidesensemencés et on effectue la numération.

J'ai résumé, dans le tableau suivant, les résultats obtenus :

NUMÉRATION APRÈS	NUMÉRATION : NOMBRE DE COLONIES		
	FILTRAT PUR	EAU DISTILLÉE	MILIEU NEUF
2 minutes .	235	186	193
4 heures .	389	168	174
8 heures .	540	118	281
24 heures .	476	67	663

4^e *hypothèse* : après avoir signalé ces trois hypothèses, LASSEUR (dans son Cours de Microbiologie) émet la 4^e hypothèse suivante :

Les filtrats peuvent, dans certaines limites, agir par la petite quantité de produits de dislocation de l'aliment qu'ils renferment.

On sait que dans l'auto-catalyse, la réaction est amorcée par la présence de produits de la réaction.

Je regrette de n'avoir pu vérifier dans quelles limites l'autocatalyse intervient dans l'action favorisante des filtrats.

Un fait plaide en faveur de cette 4^e hypothèse, c'est l'observation suivante faite par BORREL, BOLZ et COULON (1923), des doses minimes de filtrat (1/100 de cm³) suffisent à activer la végétation.

Les savants strasbourgeois ont constaté en outre

que le sang favorise la croissance du bacille tuberculeux.

Mais, il est évident que l'on ne peut pas homologuer d'autorité l'action favorisante du filtrat des cultures à l'action activante du sang.

Ce sont là deux choses parfaitement distinctes.

Jusqu'à présent, nous avons surtout limité notre étude à l'action des filtrats sur la végétation durant les premières heures de culture ; voyons maintenant ce qui se passe lorsque le contact filtrat et corps microbiens est prolongé dans un milieu favorable, c'est-à-dire en liquide L I, ce qui nous conduit à étudier l'action des filtrats sur les cultures effectuées en milieu L I et cela, non seulement quelques heures après l'ensemencement, mais aux différents stades de leur évolution.

Technique

Le milieu L I est distribué à la dose de 5 cm³ dans une série de gros tubes à essais de 30 m/m de diamètre. A chacun de ces tubes on ajoute ensuite du filtrat stérile provenant d'une culture de *B. mesentericus* (FR.). Afin de faire varier aisément les quantités de filtrat ajoutées, on effectue avec du milieu neuf filtré des dilutions allant de 1/2,5 à 1/80.

Nous avons résumé dans un tableau les principaux résultats obtenus, mais nous ne mentionnons l'état des cultures qu'au quatrième jour, pour simplifier.

**Action favorisante des filtrats sur la végétation
et la chromogénèse de *Bac. mesentericus* (Fr.)**

DILUTION DES FILTRATS	DATE DE L'OBSER- VATION	VOLUME DES FILTRATS CM ³	COLORATION DU LIQUIDE	APPARITION DU VOILE SES CARACTÈRES	COLORATION DU VOILE	OBSERVATIONS GÉNÉRALES
Témoin	4 jours	0	liquide rose	voile épais plissé grim- pant de 2 à 3 m/m le long des parois	blanc	
Filtrat pur	4 jours	0.1 0.2 0.3	liquide inco- lore	voile mince lisse	partie infé- rieure légè- rement rose	retard dans la croissance et l'appari- tion de la co- loration.
A 1/2.5	4 jours	0.1 0.2 0.3	liquide rose limpide	voile épais plissé grim- pant de 2 à 3 m/m le long des parois	blanc	action favo- rable sur la croissance.
B 1/5	4 jours	0.1 0.2 0.3	liquide rouge clair, limpide	voile très épais plissé très adhérent grimpe de 6 à 8 m/m le long des parois	partie su- périeure blanche, par- tie infé- rieure rose	action favo- rable sur la croissance et la chromo- génèse.
C 1/10	4 jours	0.1 0.2 0.3	liquide rouge	voile épais plissé grim- pant de 6 à 10 m/m le long des parois des tubes	partie supé- rieure blan- che, partie inférieure rouge-brique	action très favorable su- la croissance et la chromo- génèse. Dose optima.

Voir suite du tableau page suivante.

Tableau (suite).

DILUTION DES FILTRATS	DATE DE L'OBSER- VATION	VOLUME DES FILTRATS CM ³	COLORATION DU LIQUIDE	APPARITION DU VOILE SES CARACTÈRES	COLORATION DU VOILE	OBSERVATIONS GÉNÉRALES
D 1/20	4 jours	0.1 0.2 0.3	liquide rose	voile sem- blable au té- moin	partie supé- rieure blan- che, partie inférieure rose	pas d'action sensible sur la végétation. Action faible sur la chro- mogénèse
E 1/40	4 jours	0.1 0.2 0.3	liquide rose	voile sem- blable au témoin	blanc	pas d'action sensible sur la végétation et la chromogénèse

L'examen de ce tableau montre qu'à doses convenables, le filtrat des cultures de *B. mesentericus* (Fr.) favorise la croissance et la chromogénèse du germe microbien. Des quantités trop fortes de filtrat agissent comme antiseptiques. C'est là la vérification d'un fait bien connu, un même corps peut agir comme stimulant ou comme toxique de la nutrition cellulaire, suivant sa concentration.



CHAPITRE V

ACTION DES FILTRATS PROVENANT DE CULTURES AGÉES

a) FILTRAT DE BAC. MESENTERICUS sur d'autres germes

Le pouvoir bactériolytique des bacilles du groupe *Subtilis-Mesentericus* est un fait connu de tous les microbiologistes qui ont eu à effectuer des isolements de germes pathogènes en partant de matériel souillé.

De nombreux auteurs, en particulier M. NICOLLE (1907), ont étudié l'action cytolitique du *Bacillus subtilis*. NICOLLE émulsionne dans l'eau physiologique des cultures de diverses bactéries. Les émulsions ainsi obtenues sont ensemencées avec le *B. subtilis*. Ce germe, se développant abondamment dans le nouveau milieu, en provoque l'éclaircissement par destruction des plastides bactériennes.

Le Pneumocoque s'est révélé particulièrement sensible à l'action cytolitique du *B. subtilis*.

Viennent ensuite le Bacille de la morve, le Bacille typhique, le Bacille du charbon, le Bacille de Shiga.

Par contre, le staphylocoque est peu attaqué par le Bacille *subtilis*.

J'ai repris les expériences de NICOLLE, en utilisant le *B. mesentericus* (FR.).

Technique

Les émulsions ont été faites en partant de cultures sur gélose, âgées de 48 heures.

On enlève l'eau de condensation, puis on recouvre la culture d'eau physiologique. On met les corps microbiens en suspension en imprimant au tube un mouvement de rotation entre les mains.

On décante et filtre sur papier, à l'aide du dispositif spécial du laboratoire de microbiologie (voir thèse FABICKI).

L'émulsion est ensuite centrifugée aseptiquement.

Le culot de centrifugation est repris par l'eau physiologique, on homogénéise et on amène à une concentration microbienne donnée.

Les émulsions ainsi obtenues ont été ensemencées avec un petit fragment de *B. mesentericus* (FR.) et placées à l'étuve à 37°.

Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau ci-dessous.

GERMES ÉTUDIÉS	ECLAIRCISSEMENT ASPECT DES CULTURES APRÈS				
	2 jours	4 jours	6 jours	8 jours	10 jours
Shiga	Partiel	Partiel	Total	Total	Total
Vibron du choléra	Partiel	Partiel	Total	Total	Total
Flexner	Partiel	Partiel	Total	Total	Total
B. paratyphique A	0	Partiel	Partiel	Partiel	Total
Staphylocoque doré	0	0	Partiel	Partiel	Total
Bac. typhique	0	0	0	Partiel	Total
Colibacille	0	0	0	Partiel	Total
B. paratyphique B	0	0	0	0	Partiel

L'examen du tableau précédent montre que *B. mesentericus* (FR.) jouit de propriétés cytolytiques vis-à-vis des bacilles dysentériques Shiga, Flexner et Hiss, du Bac. d'Eberth, des Bac. paratyphiques A et B., du Vibron cholérique, du Colibacille et du Staphylocoque doré.

Il y a lieu de noter la grande sensibilité du Vibron du choléra et des Bac. dysentériques.

Par contre, le Bac. paratyphique B résiste très bien à l'action cytolytique du *B. mesentericus* (FR.).

Il est même remarquable de constater que le Bac. paratyphique B résiste plus que le Staphylocoque.

Comme tous mes prédécesseurs, dans les recherches de ce genre, j'ai utilisé l'eau physiologique et cependant l'eau salée à 9 ‰ apporte une cause d'erreur en superposant deux phénomènes : la toxicité du chlorure de sodium et le pouvoir bactéricide du *Bacillus mesentericus*.

Nous savons, depuis les remarquables travaux de LOEB, que la toxicité d'une solution physiologique peut être neutralisée par des électrolytes convenablement choisis.

J'ai donc effectué de nouvelles recherches en utilisant, non pas l'eau physiologique, mais le liquide de RINGER.

Ces recherches, effectuées avec le liquide de RINGER ont confirmé mes conclusions précédentes.

Toutefois, dans ces seconds essais, la vitesse de la bactériolyse est diminuée, ce qui était du reste à prévoir, en raison de la toxicité de l'eau physiologique utilisée dans les premières recherches.

Une autre série d'expériences confirme le pouvoir bactériolytique de *B. mesentericus*.

Des germes différents : Bac. typhique, Paratyphiques A et B, Colibacille L (de l'institut Pasteur), Bacilles dysentériques de Shiga, de Flexner, de Hiss, Staphylocoque sont ensemencés sur bouillon. Dès que la culture est trouble, on ensemence avec du *B. mesentericus*. A cet effet, on dépose délicatement un petit fragment de voile à la surface libre du liquide. Très rapidement, un beau voile plissé apparaît à la surface, en même temps que la masse liquide s'éclaircit.

Il est à noter que le mode d'ensemencement de *B. mesentericus* a une influence sur la vitesse de l'éclaircissement ; si on immerge le petit fragment de voile, l'apparition du voile à la surface libre de la culture est retardée et, par suite, la dissolution des plastides étrangères également.

GERMES ÉTUDIÉS	ECLAIRCISSEMENT ASPECT DES CULTURES APRÈS				
	1 jour	2 jours	3 jours	4 jours	5 jours
Shiga	Partiel	Complet	Complet	Complet	Complet
Flexner	Partiel	Complet	Complet	Complet	Complet
Vibron du choléra	Partiel	Partiel	Complet	Complet	Complet
Paratyphique A...	Partiel	Partiel	Complet	Complet	Complet
Colibacille	Partiel	Partiel	Partiel	Complet	Complet
Bacille typhique ..	0	Partiel	Partiel	Complet	Complet
Bac. pyocyanique..	0	Partiel	Partiel	Partiel	Complet
Paratyphique B...	0	0	0	Partiel	Partiel

Actuellement, l'action bactériolytique semble devoir être attribuée à des diastases protéolytiques ; il était donc intéressant d'étudier l'action bactériolytique des filtrats, ainsi que l'a fait M. NICOLLE en 1907.

Ce savant émulsionnait 1/2 centigramme de microbes dans 2 cm³ de filtrat de culture *Subtilis*.

L'auteur obtenait le même résultat en mélangeant parties égales de filtrat et de culture à étudier.

Les émulsions sont faites en partant de cultures sur gélose. Des cultures jeunes sont émulsionnées dans le liquide de RINGER. Par dilution, on amène les suspensions à une concentration microbienne de 1.800 millions par cm³. C'est sur ces émulsions que l'on fait agir le filtrat des cultures de *B. mesentericus* (FR.).

Dans la préparation des filtrats, il faut toujours rejeter les premières portions qui traversent la bougie, et ne faire porter l'expérimentation que sur les portions suivantes. Nous aurons d'ailleurs l'occasion de revenir sur ce point.

Les résultats sont résumés dans le tableau ci-dessous.

GERMES ÉTUDIÉS	ECLAIRCISSEMENT : ASPECT DES CULTURES APRÈS				
	1 jour	2 jours	3 jours	4 jours	5 jours
Shiga	Total	Total	Total	Total	Total
Hiss	Total	Total	Total	Total	Total
Vibron du choléra	Partiel	Total	Total	Total	Total
Flexner	Partiel	Total	Total	Total	Total
B. paratyphique A	Partiel	Total	Total	Total	Total
Bac. typhique	Partiel	Partiel	Total	Total	Total
Colibacille	0	Partiel	Partiel	Total	Total
Staphylocoque ...	0	0	0	Partiel	Total
B. paratyphique B	0	0	0	Partiel	Partiel
Bac. pyocyaneus..	0	0	0	0	Partiel

b) FILTRAT de :

- a) **Bac. pyocyannique** sur d'autres germes ;
 - b) **Bac. proteus** sur d'autres germes ;
 - c) **Staphylocoque** sur d'autres germes.
-

Il est intéressant de comparer l'action bactériolytique des Bactéries du groupe *Subtilis-Mesentericus* à celle des Bactéries non sporulées. C'est ce que nous allons faire en étudiant parallèlement l'action de germes asporulés liquéfiant la gélatine (*Bac. pyocyaneus*, *Bac. proteus* et *Staphylococcus aureus*).

Action des cultures filtrées de Bacille pyocyannique sur différents germes

1^o ACTION SUR LES GERMES SPORULÉS

B. mesentericus (Fr.)

L'action bactériolytique du *B. pyocyaneus* est bien connue. Beaucoup d'auteurs ont mis en évidence l'action antagoniste du bac. pyocyannique sur le bacille du charbon :

BAUCHARD (1888), FREUDENREICH (1889), GUIGNARD et CHARRIN (1889), WOODHEAD et CARDWRIGHT (1889), BAUCHARD (1890), BLAGOVESTCHENSKY (1890), etc...

Mais on a généralement étudié cette bactériolyse avec des Bactéries fragiles se laissant facilement désintégrer par l'ensemble des réactifs chimiques ou biologiques.

Il était donc intéressant de mesurer en quelque sorte la puissance de la diastase protéolytique de *Bac. pyocyaneus* en la faisant agir sur des bactéries très résistantes.

A cet effet, nous avons étudié l'action des filtrats de cultures âgées de deux jours, huit jours, quatorze jours, quatre semaines et six semaines sur *B. mesentericus* (FR.).

Nous résumons ci-dessous les recherches que nous avons effectuées dans cet ordre d'idée.

La technique utilisée est la suivante :

Des cultures d'âge différent (variant de 2 à 42 jours) de *B. pyocyaneus* sont filtrées sur bougie Chamberland L V. Les filtrats purs ou dilués à 1/1, 1/5 sont distribués sous volume constant, puis additionnés d'une même quantité de germes microbiens. Après des temps de contact variant de 2, 15, 30, 60, 120 minutes, à 4, 8, 16, 24 heures, on effectue des prélèvements de petits échantillons de filtratensemencé, sur lesquels on pratique la numération.

Filtrat d'une culture de *B. pyocyaneus* Gessard
E. A. agée de deux jours,ensemencé avec
***B. mesentericus* (Fr.)**

ENSEMENCEMENT EFFECTUÉ	NOMBRE DE COLONIES DÉVELOPPÉES SUR GELOSE				
	APRÈS ACTION DE FILTRAT				TÉMOIN SANS FILTRAT
	NON CHAUFFÉ			CHAUFFÉ	
	NON DIL.	D = 1/1	D = 1/5		
Après 2 minutes de contact	65	81	63	74	108
Après 4 heures de contact	3	23	80	83	163
Après 24 heures de contact	0	18	139	164	218

Le filtrat pur a une action bactéricide nette ; par dilution, ce pouvoir bactéricide s'atténue considérablement.

Le chauffage à 100° durant 30 minutes détruit complètement le pouvoir bactéricide des filtrats.

Ce pouvoir bactéricide varie avec l'âge des cultures. Les filtrats de 6 semaines offrent une action faible.

La dilution atténue donc le pouvoir bactéricide. Avec la dilution 1/5, nous assistons d'abord à la destruction des plastides, puis à leur multiplication.

La superposition de ces deux phénomènes est bien mise en évidence dans l'expérience suivante effectuée avec le filtrat de six semaines.

ENSEMENCEMENT EFFECTUÉ	NOMBRE DE COLONIES DÉVELOPPÉES SUR GÉLOSE APRÈS ACTION DU FILTRAT NON CHAUFFÉ			TÉMOIN
	NON DIL.	D = 1/1	D = 1/5	
Après 2 minutes de contact	110	85	101	65
Après 4 heures de contact	30	40	90	123
Après 24 heures de contact	5	145	308	269

Après 4 heures de contact, on observe une diminution importante du nombre de colonies ; cette diminution traduit donc incontestablement une action bactéricide. Or, après 24 heures de contact, le nombre des colonies augmente très notablement avec les dilutions de 1/1 et 1/5.

Cela tient à ce que les germes qui ont échappé à l'action bactéricide et qui ont résisté à l'action destructive se sont multipliés durant ce laps de temps.

Dans le tableau ci-dessous, nous résumerons l'action des filtrats provenant de cultures âgées de 2 à 42 jours.

AGE DES CULTURES FILTRÉES	FILTRAT DILUÉ A		
	D = 1/0	D = 1/1	D = 1/5
2 jours	—	—	+
8 jours	—	—	+
14 jours	—	—	+
4 semaines	—	—	+
6 semaines	+	+	+

Remarque : Le signe + signifie croissance.

Le signe — signifie mort des Bactéries.

Contrairement à ce que l'on croyait jusqu'à présent, les cultures âgées ne sont pas les plus actives dans la bactériolyse. Le pouvoir bactériolytique est en général peu intense, puisqu'il suffit d'une dilution au 1/5^e pour annihiler son effet.

C'est ce que nous avons déjà observé avec le *B. mesentericus* (FR.).

2^o ACTION DES FILTRATS DE *B. pyocyaneus* SUR LES GERMES NON SPORULÉS

L'action bactéricide des filtrats du Bacille pyocyannique sur des germes aussi résistants que le *Bacillus mesentericus* (FR.), nous a incité à étudier comparativement l'action des filtrats du Bacille pyocyannique sur *Bacillus proteus* X 19, Colibacille, Bacille d'Eberth, Bacille paratyphique B et le Vibron du choléra. Les filtrats provenaient de cultures âgées de 10 jours, effectuées en milieu synthétique L 1.

En général, le filtrat du Bacille pyocyannique est nettement bactéricide pour les germes expérimentés. Seuls, le *Bacillus proteus* et le *Bacillus paratyphosus* B sont peu sensibles à l'action des filtrats des cultures jeunes.

L'action bactéricide est toujours détruite par un chauffage de 30 minutes à 100°.

Nous résumons ci-dessous quelques-uns des résultats obtenus.

Filtrat d'une culture de *Bac. pyocyaneus* âgée de dix jours ensemencé avec :

a) *Bacillus proteus* X 19

ENSEMENCEMENT EFFECTUÉ APRÈS UN CONTACT DE	NUMÉRATION : NOMBRE DE COLONIES		TÉMOIN : MILIEU NEUF
	FILTRAT NON CHAUFFÉ	FILTRAT CHAUFFÉ	
2 minutes	361	293	312
4 heures	210	238	218
24 heures	132	1431	—

b) *Bacillus coli* L. de l'Institut Pasteur

ENSEMENCEMENT EFFECTUÉ APRÈS UN CONTACT DE	NUMÉRATION : NOMBRE DE COLONIES		TÉMOIN : MILIEU NEUF
	FILTRAT NON CHAUFFÉ	FILTRAT CHAUFFÉ	
2 minutes	169	193	218
4 heures	0	131	181
24 heures	0	615	677

c) *Vibron du choléra*

ENSEMENCEMENT EFFECTUÉ APRÈS UN CONTACT DE	NUMÉRATION : NOMBRE DE COLONIES		TÉMOIN : MILIEU NEUF
	FILTRAT NON CHAUFFÉ	FILTRAT CHAUFFÉ	
2 minutes	213	234	141
4 heures	67	116	158
24 heures	0	257	548

d) *Bacille typhique*

ENSEMENCEMENT EFFECTUÉ APRÈS UN CONTACT DE	NUMÉRATION : NOMBRE DE COLONIES		TÉMOIN : MILIEU NEUF
	FILTRAT NON CHAUFFÉ	FILTRAT CHAUFFÉ	
2 minutes	114	77	39
4 heures	0	45	57
24 heures	0	139	287

e) *Bac. paratyphique B.*

ENSEMENCEMENT EFFECTUÉ APRÈS UN CONTACT DE	NUMÉRATION : NOMBRE DE COLONIES		TÉMOIN : MILIEU NEUF
	FILTRAT NON CHAUFFÉ	FILTRAT CHAUFFÉ	
2 minutes	193	143	214
4 heures	124	154	138
24 heures	91	—	536

Il résulte de l'examen des tableaux précédents que des germes très différents se comportent de la même façon vis-à-vis des filtrats de *B. pyocyaneus*.

Certains germes tels que le *Bac. paratyphique B.*, que l'on était en droit de considérer comme très sensible à l'action bactériolytique, se sont montrés au contraire très résistants à l'influence destructive des filtrats. Nous trouvons là, une fois de plus, un exemple de l'extrême variation des différentes espèces microbiennes.

**Pouvoir bactéricide des cultures filtrées de
Bac. Proteus X 19**

1^o Action sur le Bacille pyocyanique, le Vibron du choléra, le Bacille typhique et le Bacille paratyphique B.

Nous résumerons en quelques lignes l'action des cultures filtrées de *Bac. proteus* X 19.

a) Les cultures filtrées de *Bac. proteus* X 19 n'ont que peu d'action sur le Bac. pyocyanique, le Vibron du choléra et le Bac. paratyphique B.

b) Par contre, les filtrats se sont montrés très toxiques pour le bacille d'Eberth ainsi qu'il ressort des nombres suivants :

**Filtrat d'une culture de Bac. proteus ensemencé avec
le Bac. paratyphique B :**

ENSEMENCEMENT EFFECTUÉ APRÈS UN CONTACT DE	NUMÉRATION: NOMBRE DE COLONIES		TÉMOIN : MILIEU NEUF
	FILTRAT NON DILUÉ	FILTRAT DILUÉ 1/1	
2 minutes	41	59	33
4 heures	31	77	68
24 heures	163	—	241

Filtrat d'une culture de *Bac. proteus* X 19 agée de quatre semaines et ensemencé avec le Bacille typhique

ENSEMENCEMENT EFFECTUÉ APRÈS UN CONTACT DE	NUMÉRATION : NOMBRE DE COLONIES		TÉMOIN : MILIEU NEUF
	FILTRAT NON DILUÉ	FILTRAT DILUÉ 1/1	
2 minutes	68	93	108
4 heures	11	18	89
24 heures	0	4	393

En résumé, le Bac. paratyphique B résiste à l'action bactéricide des filtrats de culture de *B. pyocyaneus* et à celle des filtrats de culture de *B. proteus* X 19.

Le Bacille typhique au contraire est très sensible à l'action toxique des filtrats ci-dessus.

Il est curieux de noter que des germes aussi voisins que le Bacille typhique et le Bacille paratyphique B puissent réagir de façon aussi différente vis-à-vis des agents biologiques.

2^o Action sur *Bacillus mesentericus* (FR.).

Nous venons de voir que les bactéries non sporulées ne prenant pas le Gram, sont en général peu sensibles à l'action des cultures filtrées de *Bac. proteus* X 19.

Voyons maintenant comment se comporte *B. mesentericus* (FR.) vis-à-vis ce filtrat.

Les expériences nous montrent que les filtrats provenant de cultures âgées de 2, 8 et 14 jours, sont sans action sur *B. mesentericus*.

Les filtrats non dilués de cinq semaines ont une action légèrement nocive sur les formes végétatives de *B. mesentericus* si le contact est prolongé durant 8 heures.

Le chauffage à 100° pendant 30 minutes détruit le faible pouvoir bactéricide des filtrats.

Pouvoir bactéricide des cultures filtrées de Staphylocoque doré

1^o ACTION SUR LE BAC. TYPHIQUE

Les filtrats provenant de cultures âgées de 2 jours, 8 jours, 14 jours, 4 semaines sont sans action sur le Bac. typhique.

Par contre, les filtrats provenant de 6 semaines ont un pouvoir antimicrobien très net ainsi que cela ressort du tableau suivant :

Action des filtrats du Staphylocoque doré sur le Bac. typhique

ENSEMENCEMENT EFFECTUÉ APRÈS	NUMÉRATION : NOMBRE DE COLONIES			TÉMOIN: MILIEU NEUF
	FILTRAT NON CHAUFFÉ	FILTRAT NON CHAUF. FÉ D 1/1	FILTRAT CHAUFFÉ	
2 minutes ..	80	109	44	118
4 heures ...	0	69	29	157
24 heures ...	0	142	108	—

2^o ACTION SUR LES FORMES VÉGÉTATIVES DE B. MESENTERICUS

Après filtration, les cultures de *Staphylococcus aureus* âgées de 2 jours, 10 jours, 20 jours n'exercent aucune action bactéricide sur le *Bacille mesentericus*.

En s'adressant à de vieilles cultures âgées d'au moins 30 jours, nous avons pu constater une légère action toxique ; par un chauffage à 100° pendant 30 minutes, ce pouvoir bactéricide est détruit.

c) ACTION DES ÉLECTROLYTES sur le pouvoir bactériolytique des filtrats

provenant de culture de *B. mesentericus* (FR.)

Les éléments minéraux jouant un rôle considérable dans la végétation et la chromogénèse de différentes Bactéries, nous avons recherché dans quelle mesure les électrolytes, notamment le sulfate de magnésium et le sulfate de fer, pouvaient influencer la destruction des éléments bactériens par les filtrats de cultures microbiennes.

A cet effet, les mêmes quantités de spores de *B. mesentericus* (FR.) ont étéensemencées dans les mêmes volumes des milieux suivants :

- 1° Milieu synthétique L 1.
- 2° Milieu synthétique L 1 sans magnésium.
- 3° Milieu synthétique L 1 sans fer.

10 jours après l'ensemencement, les cultures (1) ont été filtrées sur bougie L V (2).

(1) Cultures faites à 37° C.

(2) Les bougies avaient été au préalable longuement lavées (par filtration) à l'eau de conductivité jusqu'à ce qu'elles aient atteint la limite signalée par LASSEUR et GIRARDET (1924). Ces auteurs ont montré que la filtration d'eau de conductibilité sur bougie l'enrichit très notablement en ions. Toutefois, cet enrichissement diminue à mesure que le volume filtré augmente et tend vers une limite.

Les trois séries de milieux ensemencés donnent trois catégories de filtrats, dont on prélève des échantillons de 5 cm³.

A chacun de ces échantillons, on ajoute 5 cm³ d'une émulsion bactérienne déterminée effectuée dans le liquide de RINGER.

Nous allons tout d'abord étudier l'action du filtrat de *B. mesentericus* (Fr.) sur le Staphylocoque doré.

Nous résumons, dans le tableau suivant, les résultats obtenus.

1^o EXPÉRIENCE EFFECTUÉE SUR LE
STAPHYLOCOQUE DORÉ

ENSEMENCEMENT EFFECTUÉ APRÈS UN CONTACT DE	NUMÉRATION : NOMBRE DE COLO- NIES DÉVELOPPÉES APRÈS ACTION DU FILTRAT PROVENANT DE			TÉMOIN : MILIEU DE RINGER
	MILIEU L I	MILIEU L I SANS MG	MILIEU L I SANS FER	
50 secondes .	506	920	780	932
10 minutes ..	463	903	760	909
15 minutes ..	431	865	760	908
30 minutes ..	437	850	745	915
60 minutes ..	408	857	710	820
120 minutes ..	330	842	603	720
4 heures ..	344	800	581	753
8 heures ...	310	785	515	—
24 heures ...	261	730	480	703

Pour rendre les résultats plus comparables, nous les ramenons à 100 dans le tableau ci-dessous

TEMPS DE CONTACT	MILIEU TYPE	MILIEU SANS MG	MILIEU SANS FE	TÉMOIN : MILIEU DE RINGER
50 secondes ..	100	100	100	100
10 minutes ..	91.50	98.10	97.40	97.50
15 minutes ..	85.10	94.00	97.40	97.40
30 minutes ..	86.30	93.70	95.50	98.10
60 minutes ..	80.60	94.20	91.00	87.90
120 minutes ..	65.20	91.50	77.20	77.20
4 heures ...	67.90	86.90	74.60	80.70
8 heures ...	61.20	85.30	66.00	—
24 heures ...	51.50	79.30	61.50	75.40

L'examen de ce tableau montre que :

1^o Le filtrat du milieu type jouit de propriétés bactéricides importantes, fait que nous connaissons déjà.

2^o Le filtrat provenant de culture dépourvue de magnésium, ne paraît pas plus bactéricide que le liquide de RINGER.

3^o La suppression du fer diminue le pouvoir bactéricide des filtrats (1).

(1) MALFITANO et CATOIRE (1924) ont étudié le rôle du fer dans la protéolyse de l'*Aspergillus niger*.

4° L'action du sulfate de magnésium paraît beaucoup plus importante que celle du fer. Ce fait n'a rien de surprenant. En effet, une très faible quantité de fer suffit à activer la vie normale des bactéries ; on peut donc craindre que la filtration ait apporté au milieu une certaine quantité de ce métal.

2° EXPÉRIENCE EFFECTUÉE SUR LE VIBRION CHOLÉRIQUE

Nous venons d'étudier l'action du filtrat de *B. mesentericus* (Fr.) sur une plastide arrondie, nous allons examiner maintenant son action sur deux plastides allongées, le Vibrion du choléra et le Bacille paratyphique A.

Des filtrats provenant de culture de *B. mesentericus* (Fr.) âgées de dix jours sontensemencés avec une même quantité de Vibrions cholériques. Les résultats obtenus sont consignés dans le tableau ci-dessous :

NUMÉRATION EFFECTUÉE APRÈS UN CONTACT DE	NUMÉRATION APRÈS ACTION DU FILTRAT PROVENANT DE :		TÉMOIN : MILIEU NEUF
	MILIEU L 1 TYPE	MILIEU L 1 SANS MG	
quelques secondes	138	66	82
4 heures	89	70	116
20 heures	23	273	485

Les filtrats dépourvus de sulfate de magnésium sont donc moins nocifs pour le Vibrion du choléra que les filtrats provenant de cultures renfermant du $\text{SO}^4 \text{Mg}$.

Il est à remarquer que par dilution 1/1, les filtrats perdent souvent leur toxicité vis-à-vis des germes expérimentés.

3^o EXPÉRIENCE EFFECTUÉE SUR LE BAC. PARATYPHIQUE A

ENSEMENCEMENT EFFECTUÉ APRÈS UN CONTACT	NUMÉRATION : NOMBRE DE COLONIES APRÈS ACTION DU FILTRAT		TÉMOIN : MILIEU L I NEUF
	TYPE	SANS MG	
quelques secondes	612	440	531
4 heures	540	413	623
8 heures	187	771	1898
24 heures	126	985	—

Le Bac. paratyphique A se comporte donc comme le Vibrion cholérique.

Il résulte de l'ensemble de ces recherches qu'en l'absence de sulfate de magnésie, le pouvoir bactériolytique des cultures est très faible.

Mais nous savons aussi que la suppression de $\text{SO}^4 \text{Mg}$ dans le milieu L I se traduit par une diminution notable de la végétation.

Deux hypothèses peuvent donc être émises pour expliquer l'action du SO^4Mg sur le pouvoir bactériolytique des cultures.

1° SO^4Mg active l'action d'une diastase protéolytique.

2° SO^4Mg exalte la végétation et par suite indirectement la production des corps cytolytiques.

L'apport de SO^4Mg dans un filtrat provenant de culture effectuée dans du milieu L 1 dépourvu de SO^4Mg n'a nullement augmenté le pouvoir bactéricide de ce filtrat : la seconde hypothèse seule paraît donc vraisemblable.

d) ACTION DES FILTRATS sur la colorabilité des plastides

La protéolyse des plastides bactériennes conduit souvent à la fragmentation, à la granulation de la plastide, puis à la disparition, ou solubilisation des granulés ainsi formés. La mort de la cellule ne s'accompagne pas toujours de modifications morphologiques aussi visibles, mais cette mort est toujours précédée ou accompagnée de modifications physico-chimiques importantes, qui retentissent fréquemment sur la façon dont les plastides se comportent vis-à-vis des colorants.

Il était donc intéressant d'étudier les modifications que subissent les Bactéries Gram-positives sous l'action de certains filtrats bactériens.

A cet effet, des plastides déterminées ont été mises en contact avec des filtrats durant des temps variant de 50 secondes à 24 heures.

Technique

Pour mettre en évidence les variations de colorabilité, j'ai suivi la technique suivante :

1^o Etalement : les étalements ont été effectués aussi uniformément et en couches aussi minces que possible ;

Dans les préparations épaisses, la décoloration se fait très mal, le temps de décoloration augmentant avec l'épaisseur de la préparation, sans qu'il y ait toutefois de proportionnalité directe.

2^o Fixation : Les préparations ont été fixées à l'alcool-éther.

3^o Coloration :

a) violet de gentiane : j'ai utilisé pour la coloration la solution de violet de gentiane phéniquée dont voici la composition :

Violet de gentiane	1 gr.
Acide phénique neige..	2 gr.
Alcool	10 gr.
Eau distillée	100 gr.

Dans un mortier, on triture le colorant dans l'alcool, puis on ajoute l'acide phénique par petites portions.

Lorsque le mélange est bien homogène, on ajoute 70 cm³ d'eau en filet en agitant constamment.

On décante, on rince le mortier avec le restant de l'eau et on mélange les liquides.

On laisse reposer 24 heures à la température du laboratoire. On filtre. On met à l'étuve à 37° pendant 48 heures, et on filtre une deuxième fois.

Les solutions ainsi obtenues sont très stables et ne donnent pas de précipités sur les lames.

b) Solution iodo-iodurée :

La solution iodo-iodurée utilisée répondait à la composition suivante :

I	1 gr.
KI	2 gr.
Eau distillée ..	200 gr.

c) Solution de fuchsine :

La coloration de contraste a été réalisée avec la fuchsine aqueuse *non phéniquée* :

Solution alcoolique saturée de fuchsine	5 cm ³
Eau distillée	100 cm ³

Il ne faut pas effectuer la double coloration avec la fuchsine phéniquée. Les anciens travaux de KOCH (1896) ont précisé en teinture les phénomènes de déplacement que certains auteurs prétendent découvrir à nouveau. Lorsque le complexe violet de gentiane + I K I n'est pas solidement fixé sur la plastide bactérienne, il est déplacé par la fuchsine phéniquée. Il en résulte que l'élément bactérien est finalement coloré en rouge foncé, alors qu'il devrait être en violet foncé.

La coloration, la décoloration étant fonction du temps d'action des colorants et des liquides décolorants, il était nécessaire de ne comparer entre elles que des préparations ayant été rigoureusement soumises à l'action des différents agents chimiques pendant le même temps.

On peut employer des boîtes à couvercle métallique en nickel, permettant d'immerger à la fois un certain nombre de préparations ; nous avons préféré utiliser le dispositif préconisé par LASSEUR et SCHMITT dans leur étude sur la réaction de GRAM. Ces auteurs manipulent facilement 6, 12, 24, 48, 96 préparations à la fois, en fixant des pinces de blanchisseuses sur une baguette de bois de 25, 50 ou 100 cm. de longueur.

Les préparations étant maintenues par les pinces, on immerge simultanément toutes les préparations dans un bain colorant ; puis on les retire toutes à la fois lorsque le temps de contact a été jugé suffisant. On distribue donc dans une série de tubes de Borrel, les différents réactifs nécessaires à la coloration de Gram. On peut facilement immerger quatre préparations dans un tube Borrel. Si on opère sur 24 préparations à la fois, il faudra donc $24 : 4 = 6$ tubes Borrel renfermant du violet de gentiane, 6 tubes contenant du Lugol, etc., etc.

La pratique de la coloration a été réalisée de la façon suivante :

1^o On plonge les préparations une minute dans la solution de violet de gentiane phéniquée.

2^o On retire simultanément les préparations et on les plonge dans des tubes Borrel renfermant de la solution de Lugol (Bain n^o 1). On laisse en contact une minute. Il y a formation d'un précipité dont il faudra débarrasser les préparations.

Pour cela :

3° On retire les préparations du bain iodo-ioduré n° 1, on laisse égoutter quelques secondes, et on plonge les préparations dans un bain de Lugol (neuf aussi) (Bain n° 2).

4° Les lames sont plongées dans l'alcool à 96° (Bain n° 1) durant une minute.

5° On retire les préparations et on les immerge dans de l'alcool neuf à 96° (Bain n° 2) durant quatre minutes.

6° On transporte les lames dans l'eau distillée, puis,

7° On les immerge dans la solution *aqueuse non phéniquée* de fuchsine.

8° On lave les préparations dans l'eau distillée.

9° On les retire, sèche et examine à l'huile de cèdre.

Dans les tableaux suivants, je ne ferai figurer que quelques-uns des résultats obtenus.

**Action du filtrat de *Bacillus pyocyaneus* (1)
sur la colorabilité du *Bac. mesentericus* (Fr.)**

TEMPS DE CONTACT ENTRE LE FILTRAT ET LES PLASTIDES	RÉSULTATS DE LA COLORATION
Témoin	Tous les germes sont violet-noir foncé.
10 minutes	La majorité des germes est violet-noir ; quelques plastides offrent une teinte violet clair.
30 minutes	Le plus grand nombre des plastides est coloré en violet ; quelques rares germes violet-rouge (2).
120 minutes	Plastides rouges 30 %.
8 heures	Plastides rouges 50 %.
24 heures	Plastides rouges 80 %.

CONCLUSIONS :

Sous l'action de la pyocyanase, le *B. mesentericus* (Fr.) perd donc assez rapidement son aptitude à se colorer en violet foncé par la méthode de Gram.

(1) Filtrat provenant d'une culture âgée de 8 jours et effectuée sur milieu synthétique L 1.

(2) Germes violet-rouge : Sous cette dénomination, nous désignons l'aspect suivant :

Par action de l'alcool, certaines parties de la plastide bactérienne se décolorent et se teintent ultérieurement en rouge par la fuchsine. La plastide offre alors un aspect de mosaïque : Le bâtonnet violet noir, violet clair ou violet bleu est parsemé de plaques rouges plus ou moins nombreuses, variables de grandeur.

**Action du filtrat de *Staphylococcus aureus* (1)
sur *B. mesentericus* (Fr.)**

TEMPS DE CONTACT ENTRE LES PLASTIDES ET LE FILTRAT	RÉSULTATS DE LA COLORATION
Témoin	Tous les germes sont violet-noir foncé.
10 minutes	La plupart des germes : violet-noir ; rares germes : violet clair.
30 minutes	Le plus grand nombre des germes : violet clair ; les autres sont violet noir.
120 minutes	La majorité des germes est violet-rose.
4 heures	Il n'y a plus de germes violet noir ; germes roses assez nombreux.
8 heures	Plastides rouges, 25 %.
24 heures	Plastides rouges, 40 %.

CONCLUSIONS :

Le *Bacillus mesentericus* est moins sensible à l'action du filtrat de *Staphylococcus aureus* qu'à celle du filtrat de *Bacillus pyocyaneus*.

40 % des germes n'en perdent pas moins leur faculté de se colorer par la méthode de Gram.

Pour certains auteurs, la réaction de Gram est liée à la présence d'acides gras dans le corps bacil-

(1) Filtrat provenant d'une culture âgée de 15 jours et effectué sur bouillon peptoné salé.

laire. D'autres auteurs estiment, avec juste raison semble-t-il, que la résistance à la décoloration dans la méthode de Gram est sous la dépendance d'un certain état physico-chimique du cytoplasme. Les faits que nous venons d'observer plaident en faveur de cette seconde hypothèse. Ces faits montrent en outre les causes d'erreur auxquelles on s'expose quand on opère sur des cultures mixtes. Un germe, dans une culture mixte, peut être Gram négatif et devenir Gram positif en culture pure et cependant il n'y a pas eu de variation ni de mutation au sens des biologistes, comme on serait tenté de le croire, et d'ailleurs sans preuve à l'appui.

Les expressions de flore bleue et de flore rouge, dans les selles par exemple, n'ont qu'une valeur très relative.

CHAPITRE VI

POUVOIR BACTÉRICIDE DE L'EAU DISTILLÉE & DE DIFFÉRENTES SOLUTIONS SALINES

Le pouvoir bactéricide de l'eau distillée est connu; les propriétés microbicides de l'eau physiologique le sont moins, et tous les manuels de bactériologie conseillent d'effectuer les émulsions bactériennes dans l'eau salée à 9 ‰.

Depuis les travaux de LOEB et de ses élèves, les biologistes savent qu'une solution ne renfermant que du chlorure de sodium peut être d'une toxicité égale à celle de l'eau distillée. Il est possible de neutraliser l'action toxique de Na Cl, ou d'un autre sel, par addition d'un ou plusieurs autres électrolytes donnant des ions de charge convenable.

A la suite d'expériences qu'il ne précise pas, A. DUTHOIT (1923) a été conduit à étudier le pouvoir bactéricide de l'eau physiologique. En s'inspirant des recherches de SHEARER, DUTHOIT a vainement tenté de neutraliser l'action toxique de Na Cl par addition de Ca Cl².

Cet insuccès était à prévoir, il découle naturellement des travaux de LOEB, plusieurs électrolytes

étant nécessaires à la neutralisation de la toxicité de Na Cl. Ainsi s'expliquent les bons résultats donnés à DUTHOIT par le liquide de RINGER. Cet auteur utilisait la solution suivante :

Na Cl	0.9
K Cl	0.042
Ca Cl ² -10 H ² O.....	0.048
Co ³ Na H.....	0.020
H ² O dist.	100.00

Dans nos recherches nous devions utiliser de nombreuses émulsions bactériennes et, dans certains cas, il paraissait indispensable de maintenir les germes vivants dans leur suspension.

Nous avons été ainsi conduit à étudier comparativement l'action bactéricide de l'eau distillée, celle de l'eau physiologique (Na Cl 9 ‰), et celle de la solution de Ringer.

De l'eau distillée, de l'eau physiologique et de la solution de RINGER ont été réparties à cet effet dans des tubes à essais à la dose de 5 cm³, et stérilisées à 120° C. Après stérilisation, les liquides ont été additionnés de quantités connues de germes microbiens et placés à l'étuve à 37°. Puis, dans chaque tube, on a procédé à une série de prélèvements après des temps variant de quelques secondes à 24 heures. Dans chaque échantillon ainsi prélevé, on a déterminé la richesse en éléments bactériens vivants par numération sur plaque de gélose.

J'ai consigné les résultats obtenus dans les tableaux suivants.

Bacillus Mesentericus (Fr.)

TEMPS DE CONTACT	NUMÉRATION : NOMBRE DE COLONIES		
	EAU PHYSIOLOG.	EAU DISTILLÉE	SOLUTION DE RINGER
quelques secondes.	791	623	836
15 minutes	608	603	757
30 minutes	665	541	842
60 minutes	623	632	716
4 heures	531	535	736
8 heures	456	511	709
24 heures	263	418	721

Bacillus pyocyaneus E. A. (Souche Gessard)

TEMPS DE CONTACT	NUMÉRATION : NOMBRE DE COLONIES	
	EAU PHYSIOLOG.	SOLUTION DE RINGER
quelques secondes ..	424	501
15 minutes	393	481
30 minutes	361	503
60 minutes	342	419
4 heures	210	437
8 heures	80	418
24 heures	0	367

L'examen de ces tableaux montre que l'eau physiologique est au moins aussi bactéricide sinon plus que l'eau distillée. Mais, il est bien évident qu'il faut considérer l'ordre de grandeur de ces nombres et non leur valeur absolue.

Dans le liquide de RINGER, les germes bactériens conservent assez longtemps leur vitalité. Les germes prenant le Gram sont plus résistants que les germes ne prenant pas le Gram, c'est conforme à nos connaissances sur l'autolyse.

Dans ces différents liquides, la mort n'est pas liée à une question de pression osmotique au sens isotonique. La survie dans le liquide de RINGER ne s'explique que par l'antagonisme salin, si bien mis en évidence par LOEB et ses élèves.

En microbiologie, l'eau physiologique devra donc être remplacée par des solutions moins toxiques, tel le liquide de RINGER. Cette solution ne saurait convenir à toutes les espèces microbiennes. Chaque germe exigera un liquide de composition déterminée. Les recherches effectuées dans cet ordre d'idée seront certainement fécondes.

C'est beaucoup plus à l'antagonisme salin qu'à des questions d'aliment azoté qu'est liée la possibilité de cultiver certains germes réputés jusqu'ici comme réfractaires à la culture « *in vitro* ».

On a singulièrement exagéré l'importance du PH en biologie. La concentration en ions H^+ n'est pas plus importante que la concentration en ions K^+ , Na^+ , Ca^{++} , Fe^{+++} , etc...

Vouloir tout ramener au PH, c'est vouloir faire

tenir le tout dans la partie. Tout le monde est d'accord pour attribuer une grande importance à la concentration en ions $H +$; mais il ne faut pas limiter aux ions $H +$ l'intérêt primordial de la concentration des ions, comme le font beaucoup d'auteurs.

CHAPITRE VII

PRECIPITATION des PLASTIDES MICROBIENNES par les électrolytes

Nous avons apprécié le rôle considérable des électrolytes, ou mieux, celui des ions, dans les questions que nous venons d'étudier. Les ions ont une égale importance dans les phénomènes de précipitation. Depuis les mémorables recherches de BORDET (1899), on connaît l'action capitale des sels dans l'agglutination par les sérums et la propriété des ions H^+ , des ions à charge $+++$ et $++++$, de précipiter les plastides non sensibilisées par les sérums des animaux préparés.

L'obtention de sérum agglutinant entraîne toujours une préparation assez longue, de plus, les phénomènes de coagglutination viennent souvent compliquer l'interprétation des résultats. Aussi a-t-on cherché depuis longtemps à caractériser les germes par des précipitations chimiques. Ces tentatives connurent des succès bien différents, ainsi que nous allons le voir.

Je ne puis songer à faire une bibliographie complète de la question ; je me bornerai à en esquisser

les grandes lignes aux différentes époques considérées.

En 1896, BLACHSTEIN observe l'agglutination des vibrions cholériques par la chrysoïdine ; pour cet auteur, la réaction est spécifique au même titre que l'agglutination par les sérums homologues. ENGEL (1897), tout en reconnaissant l'existence de la précipitation, en conteste la spécificité.

BOSSAERT et LAMBOTTE (1897), BOSSAERT (1898), arrivent à des conclusions analogues à celles d'ENGEL. MALVOZ (1897), étudiant l'agglutination du Bac. typhique par les substances chimiques croit pouvoir différencier le Bac. typhique du Colibacille en utilisant l'eau oxygénée et le formol.

Le travail de MALVOZ suscita de nombreuses recherches, mais, ni WIDAL et NOBÉCOURT (1897), ni BECO (1898), ni REMY (1900), etc..., n'arrivèrent à différencier d'une façon certaine les Bacilles coli et typhique, par le procédé du savant belge.

Dans tous ces travaux, la contradiction n'est qu'apparente :

Des souches A, B, C, D.... d'une même espèce microbienne ne donneront pas fatalement des suspensions de même stabilité. Il peut exister des différences considérables dans la façon dont ces diverses suspensions se comportent dans l'agglutination.

Ainsi, deux échantillons de *Bac. pyocyaneus erythrogenes*, origine GESSARD et origine LA., ont réagi d'une façon très différente vis-à-vis de $(\text{SO}_4)^3 \text{Al}^2$. La souche GESSARD était précipitée même à des concentrations très faibles en $\text{Al}+++$, tandis que la souche

LA. restait homogène à toutes les concentrations en Al ++++. De même, une souche de colibacille L de l'Institut Pasteur (1) cultivée sur gélose peptonée salée, gélose viande et émulsionnée dans de l'eau distillée après vingt-quatre, quarante-huit, soixante-dix-huit heures, a donné des suspensions de stabilité différente (LASSEUR inédit).

On s'explique donc aisément les divergences apparentes observées dans les recherches que nous venons de relater.

Sous l'influence des travaux de HARDY-SCHULZE, on chercha bientôt à utiliser les ions H + et les ions à charge +++ dans la précipitation des bactéries.

Comme on admettait à ce moment que la précipitation des suspensions avait lieu au point isoélectrique, on chercha de plus à déterminer pour chaque germe la concentration d'ions optima entraînant la précipitation des corps microbiens.

MICHAELIS (1911) admettait qu'il existait pour chaque espèce bactérienne une concentration optima d'ions H.

Pour identifier un germe X, pour le différencier d'un germe connu A, il suffirait, d'après cet auteur, de rechercher la zone de précipitation optima de ce germe X.

MICHAELIS a opéré sur un petit nombre de germes, tous facilement agglutinables. Lorsqu'on a voulu géné-

(1) Nous savons certes que sous le nom de colibacille, on réunit souvent des germes d'affinité contestable ; mais ce même reproche ne saurait être fait au Bacille pyocyanique, qui peut être considéré comme un type homogène.

raliser les conclusions de cet auteur, on s'est aperçu (POPPE 1913, Ph. EISENBERG 1919, Ph. LASSEUR 1921-1924) :

1^o que toutes les espèces microbiennes ne sont pas précipitables par les ions H.

2^o que dans une même espèce, on peut observer des souches peu ou pas précipitables par les ions H.

Et par suite, l'agglutination par les acides perdait beaucoup de son intérêt, mais LASSEUR (1921) montrait qu'une souche microbienne non précipitable par les ions H pouvait être précipitée par les ions Fe +++ ou Al +++. Au lieu de se limiter à l'optimum de précipitation, l'auteur conseillait de faire porter les recherches sur un plus grand nombre de concentrations afin d'obtenir l'allure de la courbe de précipitation. Le chauffage à 80°C pouvait, d'après le même auteur, modifier complètement l'allure de la courbe de précipitation des Bactéries Gram-négatives. Il devenait donc intéressant de rechercher comment les germes non plasmolysables, les germes Gram-positifs se comporteraient vis-à-vis des électrolytes.

Nous avons tout d'abord expérimenté avec les solutions de MICHAELIS, de concentration en ions H connue.

Solutions de Michaelis

NUMÉROS DES SOLUTIONS	I	II	III	IV	V	VI
Na OH N cm ³	5	5	5	5	5	5
ac. acétique N cm ³	7.5	10	15	25	45	85
H ² O dist. cm ³	87.5	85	80	70	50	10
H	1.10^{-5}	2.10^{-5}	4.10^{-5}	8.10^{-5}	16.10^{-5}	32.10^{-5}
ph.	5	4.7	4.4	4.1	3.8	3.5

Technique utilisée dans la précipitation de Michaelis

Pour vérifier les conclusions de MICHAELIS, nous avons calqué notre technique sur celle de cet auteur, en opérant de la façon suivante :

Nous nous sommes toujours servi de cultures sur gélose âgées de 24 heures.

L'eau de condensation de ces cultures a été enlevée à l'aide d'une pipette Pasteur, afin d'éliminer les traces d'alcali et de peptone dissous ; nous avons même enlevé les restes de cette eau de condensation en lavant avec précaution la culture avec de l'eau distillée. Ensuite, nous avons émulsionné la culture dans l'eau distillée, et cette émulsion ainsi effectuée a été transvasée dans un autre tube pour être portée à la densité microbienne voulue.

Après addition des solutions acides, les suspensions ont été placées à l'étuve à 37°. La lecture des résultats a été effectuée après un séjour de 3 heures à l'étuve. L'expérience a montré que la précipitation se fait plus rapidement à 37° qu'à 20°. C'est un cas particulier d'une loi très générale : accélération des vitesses de réaction par la chaleur. Dans la plupart des cas, on observe déjà une précipitation très nette après 30 minutes, parfois plutôt. Dans certaines expériences, la précipitation n'est objective qu'après 8 ou 10 heures et souvent limitée à une ou deux concentrations (1 ou 2 tubes).

Dans les cas de précipitation négative, les mélanges suspension + acide étaient conservés 12 heures à la température du laboratoire après leur sortie de l'étuve, afin de contrôler l'absence de précipitation.

Les corps microbiens chauffés et non chauffés peuvent se comporter de façon fort différente dans la précipitation par les acides et par les ions à charge positive en général (LASSEUR 1921).

Aussi, ai-je expérimenté avec des germes vivants et des germes tués par la chaleur.

Afin de limiter le nombre des tableaux, nous ne mentionnons ci-dessous que les résultats obtenus avec *B. mesentericus* (FR.), *B. mesentericus niger* (B.), *B. mesentericus niger* (C.), *B. subtilis* (LA. et T.), *B. megatherium* (C.), *B. pyocyaneus* (G. E. A.).

Tous ces germes se comportent vis-à-vis des solutions acides de MICHAELIS comme *B. mesentericus* (FR.).

Précipitation des suspensions microbiennes par les solutions acétiques de Michaelis

A. Formes végétatives de *B. mesentericus* (Fr.)

NUMÉROS DES SOLUTIONS	PRÉCIPITATION DES SUSPENSIONS			
	NON CHAUFFÉES	CHAUFFÉES A 80°	CHAUFFÉES A 100°	CHAUFFÉES A 120°
I 1.10 ⁻⁵	—	—	—	—
II 2.10 ⁻⁵	—	—	—	—
III 4.10 ⁻⁵	—	—	—	—
IV 8.10 ⁻⁵	—	—	—	—
V 16.10 ⁻⁵	—	—	—	—
VI 32.10 ⁻⁵	—	—	—	—

Il résulte de nos recherches que les Bactéries du groupe *Subtilis-Mesentericus* ne sont pas précipitables par les différentes solutions de MICHAELIS.

C'est du moins ce qui se produit dans la majorité des cas, lorsqu'on opère avec des formes végétatives.

Dans quelques cas, nous avons pu observer un début de précipitation avec *B. subtilis* et *B. megatherium*, aux concentrations de 32.10⁻⁵.

B. Formes de repos

Les spores de *B. mesentericus* (F.), *B. mesentericus niger* (B.), *B. mesentericus niger* (C.), *B. subtilis* (LA. et T.), *B. megatherium* (CA.), se comportent vis-à-vis des solutions acides de MICHAELIS comme le font les formes végétatives correspondantes.

Dans ces recherches, nous avons opéré, non seulement sur les spores vivantes, mais encore sur les spores chauffées à 80°, à 100° et à 120°.

Les solutions de MICHAELIS ne sont donc d'aucun secours dans la diagnose des espèces du groupe *Subtilis-Mesentericus-Megatherium*.

Devons-nous, de ce fait, abandonner toute idée de précipiter les germes par les électrolytes ? Non.

En effet, certaines souches de colibacille (Coli L de l'Institut Pasteur) et un échantillon de *Bac. pyocyaneus erythrogenes* souche GESSARD ne précipitent pas par HCl, et cependant ces mêmes émulsions bactériennes sont complètement précipitées par le perchlorure de fer (LASSEUR inédit).

Par conséquent, nous sommes donc autorisés à rechercher si les suspensions *Subtilis-Mesentericus-Megatherium* ne précipitent pas par des réactifs autres que les solutions de MICHAELIS. La technique de MICHAELIS est d'ailleurs entachée d'erreurs. Cet auteur, en effet, ne lave pas les suspensions microbiennes et opère ainsi dans un milieu renfermant des substances stabilisant plus ou moins les émulsions.

Dans les recherches qui vont suivre, nous avons adopté la technique de LASSEUR, que nous résumons :

- 1^o Emploi de cultures jeunes (24 heures) ;
- 2^o Culture toujours effectuée sur le même milieu (gélose peptonée) ;
- 3^o Décanner l'eau de condensation ;
- 4^o Recouvrir la culture avec de l'eau distillée ;
- 5^o Mettre les plastides en suspension ;
- 6^o Filtrer sur papier stérile pour retenir les petits morceaux de gélose entraînés ;
- 7^o Centrifuger à fond la suspension ;
- 8^o Décanner ;
- 9^o Ajouter de l'eau distillée, remettre en suspension ;
- 10^o Centrifuger ;
- 11^o Décanner ;
- 12^o Remettre en suspension ;
- 13^o Centrifuger très légèrement pour éliminer les gros amas ;
- 14^o Décanner ;
- 15^o Par dilution, à l'aide de l'eau distillée, amener la suspension à une densité microbienne déterminée.

Nous allons étudier la précipitation par l'acide sulfurique, l'acide chlorhydrique, l'acide trichloracétique, le sulfate d'aluminium, le perchlorure de fer, le nitrate de lanthane, et le chlorhydrate de cobaltihexamine.

Nous nous contenterons de relater la partie importante des résultats obtenus.

Nous étudierons d'abord la précipitation des formes végétatives, puis nous envisagerons la précipitation des formes de repos.

Précipitation des formes vég

SO ⁴ H ² EN MILLIGR. PAR CM ³	B. MESENTERICUS (Fr.)				B. MESENTERICUS N		
	NON CHAUF.	CHAUF. A 80°	CHAUF. A 100°	CHAUF. A 120°	NON CHAUF.	CHAUF. A 80°	CHAUF. A 100°
24,5	Totale	Totale	Totale	Totale	Partiel.	Totale	Totale
12,2	Totale	Totale	Totale	Totale	Partiel.	Totale	Totale
6,1	Totale	Totale	Partiel.	Totale	Partiel.	Partiel.	Totale
3,0	Totale	Totale	Partiel.	Totale	Partiel.	Partiel.	Partiel.
1,5	Partiel.	Partiel.	Partiel.	Totale	0	0	0
0,7	0	Partiel.	0	Partiel.	0	0	0
0,3	0	0	0	0	0	0	0

1^o Toutes les formes végétatives des bacilles sporulés expérimentés précipitent par SO⁴H².

2^o Le chauffage détermine des modifications de la courbe de précipitation.

acide sulfurique

ES. NIG. (C.)			B. SUBTILIS (LA. ET T.)			B. MEGATHERIUM (CA.)			
CHAUF. A 80°	CHAUF. A 100°	NON CHAUF.	CHAUF. A 80°	CHAUF. A 100°	CHAUF. A 120°	NON CHAUF.	CHAUF. A 80°	CHAUF. A 100°	CHAUF. A 120°
Partiel.	Partiel.	Totale	Totale	Totale	Totale	Totale	Totale	Totale	Totale
Partiel.	Partiel.	Totale	Totale	Totale	Totale	Totale	Totale	Totale	Totale
Partiel.	Partiel.	Totale	Totale	Totale	Totale	Totale	Totale	Totale	Totale
Partiel.	Partiel.	Partiel.	Partiel.	Partiel.	Totale	Totale	Partiel.	Partiel.	Totale
0	0	Partiel.	Partiel.	0	Partiel.	Partiel.	0	Partiel.	Partiel.
0	0	0	0	0	Partiel.	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

3° *Bacillus pyocyaneus* E. A. souche GESSARD, ne précipite pas par SO^4H^2 .

Précipitation des formes vég

HCl EN MILLIGR. PAR CM ²	B. MESENTERICUS (Fr.)			B. MESENTERICUS NIGER (B.)		B. MESENTERICUS NIGER (C.)	
	NON CHAUFFÉ	CHAUFFÉ A 80°	CHAUFFÉ A 120°	NON CHAUFFÉ	CHAUFFÉ A 100°	NON CHAUFFÉ	CHAUFFÉ
9.125	Totale	Totale	Totale	Totale	Totale	Totale	Totale
4.562	Totale	Totale	Totale	Totale	Totale	Totale	Totale
2.281	Totale	Totale	Totale	Partielle	Totale	Partielle	Totale
1.140	Totale	Partielle	Totale	Partielle	Partielle	Partielle	Partielle
0.570	Partielle	0	Totale	0	Partielle	0	Partielle
0.285	0	0	Partielle	0	0	0	0
0.142	0	0	Partielle	0	0	0	0
0.0710	0	0	0	0	0	0	0
0.0355							
0.0178							
0.0089							

L'examen du tableau montre que :

1° Toutes les bactéries sporulées précipitent par HCl. Les courbes de précipitation obtenues avec les différents germes sont très voisines.

2° *Bac. pyocyaneus erythrogenes* (souche GESSARD) précipite très bien par HCl, tandis qu'il n'était pas influencé par SO^4H^2 .

Il est à remarquer que *Bac. pyocyaneus* précipite

l'acide chlorhydrique

B. SUBTILIS (LA. ET T.).			B. MEGATHERIUM (CA.)			B. PYOCYANEUS E. A. (GESSARD)		
NON CHAUFFÉ	CHAUFFÉ A 80°	CHAUFFÉ A 120°	NON CHAUFFÉ	CHAUFFÉ A 80°	CHAUFFÉ A 120°	NON CHAUFFÉ	CHAUFFÉ A 80°	CHAUFFÉ A 120°
Totale	Totale	Totale	Totale	Totale	Totale			
Totale	Totale	Totale	Totale	Totale	Totale			
Partielle	Partielle	Totale	Partielle	Totale	Totale			
0	Partielle	Totale	Partielle	Partielle	Totale			
0	0	Partielle	0	Partielle	Partielle			
0	0	Partielle	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	Totale	Totale	Partielle
0	0	0	0	0	0	Totale	Totale	Totale
						Totale	Totale	Totale
						Totale	Partielle	Totale
						0	0	0

dans les zones de concentration inactives pour les Bactéries sporulées.

Comparons les zones de précipitation à celles que donnent les germes non sporulés tels que *B. cyaneofluorescens*, *B. syncyaneus*, *B. Bruntzii*, *B. Le Monnierii*, *B. chlororaphis*.

Pour faciliter la comparaison, nous n'envisagerons que les plastides vivantes.

Zônes de précipitation par H

HCL EN M/MGR. PAR CM ³	B. MESENER. (FR.)	B. MESENER. NIGER (C.)	B. MESENER. NIGER (B.)	B. SUBTILIS (LA. ET T.)	B. MEGALOTER. (C.)
9,125	Totale	Totale	Totale	Totale	Totale
4,562	Totale	Totale	Totale	Totale	Totale
2,281	Totale	Partielle	Partielle	Partielle	Partielle
1,140	Totale	Partielle	Partielle	0	Partielle
0,570	Partielle	0	0	0	0
0,285	0	0	0	0	0
0,142	0	0	0	0	0
0,071	0	0	0	0	0
0,0355	0	0	0	0	0
0,0178	0	0	0	0	0
0,0089	0	0	0	0	0

Les Bactéries du groupe *Subtilis-Mesentericus-Megatherium* sont donc beaucoup moins précipitables que les germes non sporulés.

astides provenant de

B. CYANEUS (A. GESS.)	B. CYANEO-FLUO- RESCENS (1)	B. SYNCYANEUS (1)	B. BRUNTZII (1)	B. LE MONNIERI (1)	B. CHLORORAPHIS (1)
0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0
0	0	0	Totale	0	0
Totale	Totale	Totale	Totale	0	0
Totale	Totale	Totale	0	0	0
Totale	Totale	Totale	0	Totale	Totale
Totale	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0

On observe des faits analogues dans l'agglutination par le sérum.

(1) Valeurs empruntées au travail de LASSEUR ; *Réactions Anticorps*. 1921.

Précipitation des formes végétatives

C CL ³ COOH EN M/MGR. PAR CM ³	B. MESENTERICUS (Fr.)		B. MESENTERICUS NIGER (B.)		B. M
	NON CHAUFFÉ	CHAUFFÉ A 120°	NON CHAUFFÉ	CHAUFFÉ A 120°	NIG
81.750	Totale	Totale	Totale	Totale	T
40.875	Totale	Totale	Totale	Totale	T
20.437	Totale	Totale	Totale	Totale	T
10.218	Totale	Totale	Totale	Totale	T
5.108	Totale	Totale	Totale	Tatale	T
2.554	Totale	Totale	Partielle	Totale	T
1.277	Partielle	Totale	0	Partielle	Pa
0.638	0	0	0	0	

Outre les concentrations indiquées, les essais ont été effectués avec des concentrations allant

acide trichloracétique

PRESENT. (C.)	B. SUBTILIS (LA. ET T.)			B. MEGATHERIUM (CA.)		
CHAUFFÉ A 120°	NON CHAUFFÉ	CHAUFFÉ A 100°	CHAUFFÉ A 120°	NON CHAUFFÉ	CHAUFFÉ A 100°	CHAUFFÉ A 120°
Totale	Totale	Totale	Totale	Totale	Totale	Totale
Totale	Totale	Totale	Totale	Totale	Totale	Totale
Totale	Totale	Totale	Totale	Totale	Totale	Totale
Totale	Totale	Totale	Totale	Totale	Totale	Totale
Totale	Totale	Partielle	Totale	Totale	Totale	Totale
Totale	Totale	Partielle	Totale	Partielle	Partielle	Totale
Totale	0	0	Partielle	0	0	Partielle
0	0	0	0	0	0	0

jusqu'à 0,0199, concentration en milligr. par cm³
de C CL³ COOH.

L'acide trichloracétique se comporte donc sensiblement comme l'acide chlorhydrique.

Tous les germes expérimentés sont précipités à l'exception de *B. pyocyaneus*.

Mais le fait qu'un germe n'est pas précipité par les ions H^+ n'implique nullement qu'il ne le sera pas par des ions à charge $++$ et $+++$.

Pour MINES, de Cambridge, les cations fortement électropositifs des sels des terres rares (Ce, La, Jt) précipitent aussi bien les émuloïdes que les suspensoïdes. Par contre, les complexes comme $Cl^3 [Co (NH_3)^6]$ précipitent seulement les suspensoïdes et non les émuloïdes.

MINES considère les bactéries comme des émuloïdes, et, à ce titre, elles sont agglutinées d'une façon intense par les sels des terres rares, mais ne sont pas influencées par les complexes inorganiques.

Par contre, lorsque les bactéries ont été en contact avec les agglutinines, en l'absence des électrolytes, elles précipitent sous l'action ultérieure des complexes.

L'addition de sérum homologue a modifié la stabilité des suspensions microbiennes qui, suivant la terminologie de MINES sont devenues des suspensoïdes.

Il n'y a guère autre chose qu'une question de terminologie ; le seul point à retenir c'est que l'addition de sérum homologue modifie la stabilité des corps microbiens et que les sels complexes ne se

comportent pas comme les sels trivalents des terres rares.

Il devenait intéressant de rechercher comment les germes du groupe *Subtilis-Mesentericus* se comporteraient avec Fe + + +, Al + + +, avec les sels des terres rares et avec $\text{Cl}^3 [\text{Co} (\text{NH}_3)^6]$.

Précipitation des formes vég.

SULFATE D'ALUMI- NIUM EN M/MGR. PAR CM ³	B. MESENTERICUS (Fr.)			B. MESENTERICUS NIGER (B.)		
	NON CHAUFFÉ	CHAUFFÉ A 80°	CHAUFFÉ A 120°	NON CHAUFFÉ	CHAUFFÉ A 100°	CHAUFFÉ A 120°
50	0	Partielle	0	0	0	Partielle
25	Partielle	Totale	0	Partielle	0	Totale
12,5	Totale	Totale	0	Totale	Partielle	Totale
6,25	Totale	Totale	Partielle	Totale	Partielle	Totale
3,125	Totale	Totale	Totale	Totale	Totale	Totale
1,5625	Totale	Totale	Totale	Totale	Totale	Totale
0,7812	Totale	Totale	Totale	Totale	Totale	Totale
0,390	Partielle	Totale	Totale	Totale	Totale	Totale
0,195	0	Totale	Totale	Partielle	Totale	Totale
0,097	0	Partielle	Partielle	0	Partielle	Partielle
0,048	0	0	0	0	0	0

Tous les germes précipitent par le sulfate d'aluminium.

A l'égard de ce réactif, le chauffage influence beaucoup plus le *Bacillus pyocyaneus* que les Bactéries sporulées.

par le Sulfate d'Aluminium

B. MESENT NIGER(C)	B. SUBTILIS (L.A. ET T.)		B. MEGATHERIUM (C.A.)		B. PYOCYANEUS E.-A. (GESSARD)		
CHAUFFÉ A 120°	NON CHAUFFÉ	CHAUFFÉ A 120°	NON CHAUFFÉ	CHAUFFÉ A 80°	NON CHAUFFÉ	CHAUFFÉ A 100°	CHAUFFÉ A 120°
0	0	0	0	0	0	Partielle	0
Partielle	0	0	Partielle	0	0	Partielle	Totale
Partielle	Totale	0	Partielle	0	0	Totale	Totale
Partielle	Totale	Partielle	Partielle	Partielle	Partielle	Totale	Totale
Totale	Totale	Partielle	Totale	Totale	Partielle	Totale	Totale
Totale	Totale	Totale	Totale	Totale	Partielle	Totale	Totale
Totale	Totale	Totale	Totale	Totale	Totale	Totale	Totale
Totale	Totale	Totale	Totale	Partielle	Totale	Totale	Totale
Totale	Totale	Totale	Totale	0	Partielle	Totale	Totale
Totale	Partielle	Partielle	0	0	0	0	0
Partielle	0	0	0	0	0	0	0

Etudions maintenant l'action du perchlorure de fer.

Précipitation des formes vége

PERCHLORURE DE FER EN M/MGR. PAR CM ³	B. MESENTERICUS (Fr.)		B. MESENTERICUS NIGER (B.)		B.
	NON CHAUFFÉ	CHAUFFÉ A 120°	NON CHAUFFÉ	CHAUFFÉ A 100°	NIGER
65	0	Totale	0	0	
32,50	0	Totale	0	0	
16,25	0	Totale	0	0	
8,125	Partielle	Totale	0	Partielle	P
4,062	Totale	Totale	Partielle	Partielle	
2,031	Totale	Totale	Partielle	Totale	
1,015	Totale	Totale	Totale	Totale	
0,507	Totale	Totale	Totale	Totale	P
0,253	Partielle	Partielle	Totale	Partielle	
0,1265	0	0	Totale	0	
0,0632	0	0	0	0	

(1) Nous sommes partis pour les dilutions du perchlorure de fer de la solution officinale, c'est-à-dire d'une solution contenant, pour 100 parties, 2 de perchlorure de fer.

par le perchlorure de fer (1)

PRÉSENT R (C.)	B. SUBTILIS (LA. ET T.)		B. MEGATHERIUM (CA.)		B. PYOCYANEUS E.-A. (GESSARD)	
	NON CHAUFFÉ	CHAUFFÉ A 120°	NON CHAUFFÉ	CHAUFFÉ A 120°	NON CHAUFFÉ	CHAUFFÉ A 120°
0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0
Partielle	0	0	0	0	0	0
Partielle	0	Partielle	Partielle	Partielle	Partielle	0
Totale	Partielle	Totale	Partielle	Totale	Partielle	Partielle
Totale	Totale	Totale	Totale	Totale	Totale	Totale
Totale	Totale	Totale	Totale	Totale	Totale	Totale
Totale	Totale	Totale	Totale	Totale	Totale	Totale
Totale	Totale	Totale	Partielle	Totale	Totale	Totale
Partielle	0	0	0	Partielle	Partielle	Partielle
0	0	0	0	0	0	0

Le perchlorure de fer précipite les formes végétales de *B. mesentericus* (Fr.), *B. mesentericus niger* (B.), *B. mesentericus niger* (C.), *B. subtilis* (LA et T.), *B. megatherium* (CA.), et le *Bac. pyocyaneus* GESSARD E. A.

Précipitation par le Cobalthexamine

Dans le complexe $\text{Cl}^3 [\text{Co} (\text{NH}_3)^6]$, le noyau est un cation trivalent à charge $+++$.

Mes tentatives de précipitation par le complexe Cobalthexamine ont porté sur les Bactéries sporulées : le *B. mesentericus* (FR.), *B. mesentericus niger* (C.), *B. mesentericus niger* (B.), *B. subtilis* (LA. et T.), *B. megatherium* (CA.), ainsi que sur différentes bactéries non sporulées : *Bacillus pyocyaneus* E. A., souche GESSARD, *Bacillus typhosus*, Bacille Para A, Bacille Para B, et Staphylocoque doré. J'ai opéré sur les plastides vivantes, sur les plastides chauffées à 80°, à 100° et à 120°.

Il résulte de mes expériences :

1° Que les formes végétatives des bactéries sporulées ne précipitent pas par le complexe cobalthexamine.

2° Les bactéries non sporulées précipitent par le complexe mais uniquement dans la région des fortes concentrations variant de 5 à 312 milligr. par cm^3 .

3° Le Bacille *pyocyaneus* E. A., souche GESSARD ne précipite pas, même à des concentrations élevées.

Précipitation par le Chlorhydrate de Cobaltihexamine

CONCENTRATION EN COBALTI- HEXAMINE M/MGR. PAR CM ³	BACILLE TYPHIQUE (1)		BACILLE PARA- TYPHIQUE A (2)		BACILLE PARA- TYPHIQUE B (3)		STAPHYLOCOQUE DORÉ 1.P.	
	NON CHAUFFÉ	CHAUFFÉ A 80°	NON CHAUFFÉ	CHAUFFÉ A 80°	NON CHAUFFÉ	CHAUFFÉ A 120°	NON CHAUFFÉ	CHAUFFÉ A 120°
5	Traces	Totale	0	0	Totale	Totale	Partielle	Totale
2,5	Partielle	Totale	0	Partielle	Totale	Totale	Totale	Totale
1,25	Partielle	Totale	Partielle	Partielle	Totale	Totale	Totale	Totale
0,625	0	Partielle	Partielle	Totale	Totale	Totale	Totale	Totale
0,312	0	0	0	0	Totale	Totale	Partielle	Totale
0,156	0	0	0	0	0	Partielle	0	Partielle

(1) Bacille typhique : Les plastides chauffées à 120° se comportent comme les plastides chauffées à 100° et 80°.

(2) Bacille paratyphique A : Les plastides chauffées à 120° précipitent comme les plastides chauffées à 100°.

(3) Les plastides vivantes et chauffées réagissent sensiblement de la même façon au cobaltihexamine.

Le nitrate de lanthane précipite les bactéries expérimentées. Le pouvoir précipitant est faible et il est à remarquer que le chauffage influence très peu la précipitation par le nitrate de lanthane.

Les courbes de précipitation des différentes bactéries sont sensiblement les mêmes.

Précipitation des formes de repos

Lorsque l'on étudie l'agglutination des Bactéries du groupe *Subtilis-Mesentericus-Megatherium* à l'aide des sérums expérimentaux, on constate (LASSEUR, recherches inédites), que les spores sont plus agglutinables par sérum anti-spore que les formes végétatives par sérum anti-forme végétative.

Il était donc intéressant de vérifier si les spores ne seraient pas plus facilement précipitables par les agents chimiques que ne le sont les formes végétatives.

Dans cet ordre d'idée, nous avons étudié la précipitation des spores de *B. mesentericus* (FR.), *B. mesentericus niger* (B.), *B. mesentericus niger* (C.), par l'acide sulfurique, l'acide chlorhydrique, le sulfate d'aluminium, le perchlorure de fer, le nitrate de lanthane et le chlorhydrate de cobaltihexamine.

Les émulsions des spores ont été préparées de la même façon que les émulsions des formes végétatives.

Tous les essais ont été effectués :

1^o Avec les spores vivantes ;

2^o Avec les spores chauffées à 80° C. ;

3° Avec les spores chauffées à 100° C. ;

4° Avec les spores chauffées à 120° C.

1° *Précipitation par l'acide sulfurique* : Les spores de *B. mesentericus* (FR.), *B. mesentericus niger* (B.), *B. mesentericus niger* (C.), ne précipitent pas par l'acide sulfurique pour des concentrations variant de 24,5 mmgr. à 0,0119 mmgr. SO_4H^2 par cm^3 .

2° *Précipitation par l'acide chlorhydrique* : Les spores expérimentées ne sont pas précipitées par l'acide chlorhydrique.

3° *Précipitation par l'acide trichloracétique* : L'acide trichloracétique ne précipite pas les spores de *B. mesentericus* (FR.), *B. mesentericus niger* (C.), *B. mesentericus niger* (B.).

Donc, en résumé, les spores des germes expérimentés ne sont pas précipitables par les acides.

Etudions maintenant la précipitabilité des formes de repos vis-à-vis des ions $\text{Al}+++$ et $\text{Fe}+++$, et le complexe cobaltihexamine à charge $+++$.

Précipitation des spores par le sulfate d'aluminium

SULFATE ALUMIN. M/MGR. PAR CM ³	SPORES MESENTERICUS (Fr.)		SPORES MESENTERICUS NIGER (B.)		SPORES MESENTERICUS NIGER (C.)	
	NON CHAUFFÉ	CHAUFFÉ A 80°	NON CHAUFFÉ	CHAUFFÉ A 100°	NON CHAUFFÉ	CHAUFFÉ A 120°
6,25	0	0	Partielle	0	0	0
3.125	0	0	Complète	Complète	0	Partielle
1.5625	0	0	Complète	Complète	Complète	Complète
0.7812	0	0	Complète	Complète	Complète	Complète
0.390	Partielle	0	Complète	Complète	Complète	Complète
0.195	Partielle	Partielle	Complète	Complète	Complète	Complète
0.097	Complète	Partielle	Complète	Complète	Complète	Complète
0.048	Complète	Partielle	Complète	Complète	Complète	Complète
0.024	0	0	0	0	0	0
0.012	0	0	0	0	0	0

Précipitation des spores par le perchlorure de fer

PERCHLOR. DE FER EN M/MGR. PAR CM ³	SPORES MESENTERICUS (Fr.)		SPORES MESENTERICUS NIGER (B.)		SPORES MESENTERICUS NIGER (C.)	
	NON CHAUFFÉ	CHAUFFÉ A 120°	NON CHAUFFÉ	CHAUFFÉ A 80°	NON CHAUFFÉ	CHAUFFÉ A 120°
65	0	0	0	0	0	0
32.50	0	0	0	0	0	0
16.25	0	0	0	0	0	0
8.125	0	0	0	0	0	0
4.062	0	0	0	0	Partielle	0
2.031	Partielle	Partielle	Totale	Partielle	Totale	Partielle
1.015	Totale	Totale	Totale	Totale	Totale	Totale
0.507	Totale	Totale	Partielle	Partielle	Totale	Totale
0.253	Totale	Totale	Partielle	Partielle	Partielle	Partielle
0.1265	Partielle	Partielle	0	0	0	0
0.0632	0	0	0	0	0	0

Les spores de *B. mesentericus* (FR.), *B. mesentericus niger* (C.), *B. mesentericus niger* (B.), précipitent par le sulfate d'aluminium et le perchlorure de fer. Il est à remarquer que, pour certaines espèces bactériennes, le chauffage modifie considérablement la précipitabilité des spores par le sulfate d'aluminium et le perchlorure de fer.

Comparons l'action de la chaleur sur la forme végétative et sur les spores de *B. mesentericus* (FR.). En présence de FeCl_3 , la précipitabilité des formes végétatives est augmentée considérablement par le chauffage, tandis que ce même chauffage diminue très notablement la précipitabilité des formes de repos de *B. mesentericus* (FR.).

Les spores de *B. mesentericus* (FR.), et les spores de *B. mesentericus niger* (B.), et de *B. mesentericus niger* (C.), se comportent différemment vis-à-vis du sulfate d'aluminium. Les premières précipitent à des concentrations variant de 0,390 à 0,048 mmgr par cm^3 , les secondes à des concentrations variant de 6,25 à 0,048 mmgr par cm^3 .

Précipitation des spores par le chlorhydrate de cobalthexamine

CONCENTRATION EN COBALT- HEXAMINE EN M/MGR. PAR CM ³	SPORES MESETER. (Fr).		SPORES MESETER. NIGER (B.) (1)		SPORES MESETER. NIGER (C.) (2)		SPORES SUBTILIS (L.A. ET T.) (3)		SP. MEGATHERIUM (Ca.)	
	NON CHAUFFÉ A 100°	CHAUFFÉ A 100°	NON CHAUFFÉ A 80°	CHAUFFÉ A 80°	NON CHAUFFÉ A 80°	CHAUFFÉ A 80°	NON CHAUFFÉ A 80°	CHAUFFÉ A 80°	NON CHAUFFÉ A 80°	CHAUFFÉ A 80°
5	0	0	Partielle	Totale	0	Totale	Partielle	Complète	Partielle	Totale
2,5	0	0	Totale	Totale	Totale	Totale	Totale	Complète	Totale	Totale
1,25	0	0	Totale	Totale	Totale	Totale	Totale	Complète	Totale	Totale
0,625	0	0	Totale	Totale	Totale	Totale	Totale	Complète	Totale	Totale
0,312	0	0	Totale	Totale	Partielle	Totale	Totale	Complète	Totale	Totale
0,156	0	0	0	0	0	0	Partielle	Complète	Partielle	Partielle
0,078	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

(1) Les spores de *Bac. mesentericus niger* (Bejerinck), chauffées à 80°, 100° et 120° se comportent sensiblement de la même façon vis-à-vis du précipitant.

(2) Les spores de *Bac. mesentericus niger* (COURMONT), chauffées à 80°, 100° et 120°, réagissent de la même manière sur l'action du complexe cobalthexamine.

(3) Les spores de *Bac. subtilis* chauffées aux différentes températures offrent la même courbe de précipitation.

Contrairement à ce que l'on observe avec les formes végétatives, les spores de *B. mesentericus niger* (C.), de *B. mesentericus niger* (B.), *B. subtilis* (LA. et T.), *B. megatherium* (CA.), précipitent par le complexe chlorhydrate de cobaltihexamine. Seuls, les spores de *B. mesentericus* (FR.) ne précipitent pas et se comportent comme les formes végétatives correspondantes.

Le nitrate de lanthane précipite les spores de *B. mesentericus* (FR.), *B. mesentericus niger* (B.), *B. mesentericus niger* (C.), à des concentrations variant de 5 à 0,312 mmgr. par cm³.

Les spores chauffées ou non chauffées se comportent donc vis-à-vis du nitrate de lanthane sensiblement comme les formes végétatives.

Action du chauffage

Le chauffage augmente ou diminue considérablement la stabilité des émulsions bactériennes et par suite modifie profondément la courbe de précipitation de nombreuses plastides. C'est la conclusion à laquelle LASSEUR était arrivé en 1921.

Mais, un fait nouveau découle de mes recherches, c'est le suivant :

Tous les électrolytes ne sont pas également aptes à révéler ces modifications de stabilité. Ainsi, l'acide trichloracétique ne décèle aucune différence entre les émulsions du Bacille pyocyanique chauffées et les émulsions du Bacille pyocyanique non chauffées. L'acide chlorhydrique ne met en évidence après chauffage que de légères modifications, tandis que le

sulfate d'aluminium révèle des variations profondes dans la stabilité des émulsions de *Bacillus pyocyaneus* chauffées et non chauffées.

Ce que nous venons de voir avec le Bacille pyocyanique, nous l'observons avec la majorité des germes bactériens.

Contrairement à ce que l'on croyait jusqu'à 1921, la précipitation par les électrolytes ne peut donc avoir la prétention à une certaine spécificité qu'à la condition de faire intervenir de nombreux facteurs :

Origine des plastides bactériennes (nature du milieu de culture), âge de la culture, richesse des émulsions en électrolytes et en substances protéiques provenant des milieux de culture, âge de l'émulsion, densité microbienne, température du chauffage, nature du précipitant, etc...

Sous ces réserves, la précipitation par les électrolytes peut rendre de grands services dans la différenciation des formes que les caractères classiques, morphologiques, culturels et sérologiques ne définissent pas suffisamment.

CHAPITRE VIII

CONCLUSIONS GENERALES

1^o Après onze années de culture, les souches provenant de la collection LASSEUR-THIRY n'offrent pas de variation bien sensible ;

2^o L'influence de l'origine de la semence est incontestable ;

3^o C'est le temps qui intervient surtout dans la production des races ;

4^o Le rapport $\frac{\text{longueur}}{\text{largeur}}$ proposé par LASSEUR permet de se rendre compte très rapidement de l'allure générale d'une population microbienne ;

5^o Les courbes tracées en fonction des rapports permettent de se rendre immédiatement compte de l'allongement ou du raccourcissement des plastides ;

6^o Grâce à cette notion de rapport, la notion de polymorphisme se précise et perd beaucoup de sa fréquence, mais non de son intérêt ;

7° Le sulfate de magnésie joue un rôle important dans la végétation microbienne. Les cultures effectuées avec et sans $\text{SO}^4 \text{Mg}$ donnent des récoltes de corps microbiens dont le poids varie dans le rapport de 1/17^e à 1/25^e ;

8° L'action du sulfate de magnésie est spécifique ;

9° Dans les milieux synthétiques, un rapport déterminé doit exister entre la concentration en calcium et la concentration en magnésium ;

10° Dans la recherche des milieux synthétiques, il faudra réaliser non seulement une pression osmotique déterminée, mais encore obtenir la neutralisation des ions au sens de LOEB ;

11° Le sulfate de magnésie exalte la fonction chromogène ;

12° Les filtrats de cultures très jeunes, âgées de deux heures, sont moins toxiques que le milieu neuf ;

13° Avec les filtrats de 16 à 24 heures, on n'observe pas de destruction notable des Bactéries comme cela s'observe avec les milieux neufs ;

14° Les produits d'hydrolyse des corps bactériens de *B. mesentericus* (FR.) activent la végétation de ce germe ;

15° Des doses convenables de filtrat de culture de *B. mesentericus* (FR.), favorisent la croissance et la chromogénèse de ce germe. Des doses trop fortes ont une action antiseptique ;

16° *Bac. mesentericus* (Fr.) jouit de propriétés cytolytiques vis-à-vis des B. dysentériques de Shiga, de Flexner et de Hiss, du Vibrion cholérique, des B. paratyphiques A et B, du Bac. d'Eberth, du Colibacille, du B. pyocyanique et du Staphylocoque doré ;

17° Les filtrats de culture de B. pyocyanique sont bactéricides vis-à-vis du *B. mesentericus* (Fr.);

Les filtrats de culture de deux jours sont aussi actifs que les filtrats provenant de culture âgée de 8, 14, 21 jours ;

18° Le B. paratyphique B est peu sensible à l'action des filtrats provenant de culture de B. pyocyanique ;

19° Le B. paratyphique B résiste à l'action des filtrats des cultures de *Bac. pyocyaneus* et à l'action des filtrats de *B. proteus* X 19 ;

20° Les Bacilles typhiques sont très sensibles à l'action des filtrats de *Bac. pyocyaneus* et à l'action des filtrats de *B. proteus* X 19 ;

21° Les filtrats provenant de cultures effectuées en milieu L 1, dépourvu de magnésie, sont peu bactéricides ;

22° L'action du magnésium paraît plus importante que celle du fer ;

23° Sous l'action des cultures filtrées de B. pyocyanique, le *B. mesentericus* (Fr.) perd rapidement son aptitude à se colorer par la méthode de Gram ;

24° Un germe dans une culture mixte peut perdre la faculté de se colorer par la méthode de Gram ;

25° L'eau salée à 9 ‰ est aussi bactéricide que l'eau distillée ;

26° Le liquide de RINGER est moins toxique que l'eau physiologique ;

27° Chaque groupe d'espèce bactérienne exige une solution de composition déterminée ;

28° Les formes végétatives et les formes de repos de *B. mesentericus* (FR.), *B. mesentericus niger* (C.), *B. mesentericus niger* (B.) *B. subtilis* (LA. et T.), *B. megatherium* (CA.), ne sont pas précipitables par les solutions acides de MICHAELIS ;

29° La technique de Michaelis n'est pas exempte d'erreurs ;

30° Toutes les formes végétatives de *B. mesentericus* (FR.), *B. mesentericus niger* (B.), *B. mesentericus niger* (C.), *B. subtilis* (LA. et T.), *B. megatherium* (CA.) précipitent par SO^4H^2 et HCl ;

31° Les Bactéries du groupe *Subtilis-Mesentericus-Megatherium* sont beaucoup moins précipitables par SO^4H^2 et HCl que les germes non sporulés ;

32° Toutes les formes végétatives du groupe *Subtilis-Mesentericus-Megatherium* précipitent par $(\text{SO}^4)^3$ Al^2 et Fe Cl^3 ;

33° Le complexe chlorhydrate de cobalthexamine ne précipite pas les formes végétatives du groupe

Subtilis-Mesentericus-Megatherium, mais il précipite par contre les formes de repos ;

34° Les spores de *B. mesentericus* (FR.), *B. mesentericus niger* (B.), *B. mesentericus niger* (C.), ne sont pas précipitées par les acides ;

35° Ces mêmes formes de repos sont précipitées par Fe +++ et Al +++ ;

36° Le chauffage modifie considérablement la précipitabilité des plastides bactériennes (qu'il s'agisse de formes végétatives ou de formes de repos). Le chauffage augmente ou diminue la précipitabilité suivant les germes considérés ;

37° Tous les électrolytes ne sont pas également aptes à révéler les variations de stabilité déterminées par le chauffage.

CHAPITRE IX

INDEX BIBLIOGRAPHIQUE

- ALILAIRE E. — *Expériences sur l'autolyse du colibacille.* — Ann. Inst. Pasteur, t. XVII, p. 118-121, 1913.
- AUBEL et COLIN. — *Réaction du milieu et filtration des toxines.* — C. R. Acad. Sciences, t. 161, p. 506, 1915.
- BEAUVERIE J. — *Nouvelles expériences sur l'influence qu'exerce la pression osmotique sur les bactéries.* — C. R. Acad. Sciences, t. 163, p. 769 et 494, 1916.
- BECHHOLD. — *Einfluss des Nährbodens auf die Morphologie der Kolonien und auf die Agglutinabilität der Bakterien.* — Archiv. für Hygiene, t. 59.
- BECHHOLD. — *Die Ausflockung von Suspensionen bez. Kolloiden und Bakterien-agglutination.* — Zeitschrift f. physik. Chemie, V. 48, p. 385, 1904.
- BECO. — *Recherches sur la valeur de l'agglutination par la formoline.* — Bulletin Acad. Roy. med. Belg. n° 4, 1898.
- BECO. — *Recherches sur le sérodiagnostic de la fièvre typhoïde.* — Bull. Acad. Roy. Belg. n° 11, 1896.
- BENIASCH M. — *Die Säureagglutination der Bakterien.* — Zeitschr. f. Immun. forschung und experiment. Therapie, Orig. Vol. 12, p. 268-315, Jena 1911-1912.
- BESREDKA. — *Des endotoxines solubles.* — Ann. Inst. Pasteur, t. XX p. 304, 1906.
- BIEL. — *Über einen schwarzen Pigment bildenden Kartoffelbazillus.* — Centralbl. für Bakter. etc., Bd. 2, n° 5, 1896.
- BLACHSTEIN. — *Verhalten des Chrysoidins gegen Choleravibrien.* — Münch. med. Wochenschr., p. 1067, 1896.

- BLAGOVESTCHENSKY N. — *Sur l'antagonisme entre les bacilles du charbon et ceux du pus bleu.* — Ann. Inst. Pasteur, t. IV, p. 689-715, Pa., 1890.
- BLANC J. AND POZERSKI E. — *Sur les ferments protéolytiques du b. sporogène et du b. histolyticus.* — C. R. Soc. Biologie, t. 83, p. 1369, 1920.
- OSKAR BLAU. — *Über die Temperaturmaxima der Sporenkeimung und der Sporenbildung, sowie die Supramaximale Tætungszeiten der Sporen der Bakterien auch derjenigen mit hohen Temperaturmaxima.* — Centralbl. für Bakterien, etc., II Abt Bd xv, p. 97, 1906.
- BOKORNY. — *Einwirkung von Metallsalzen auf Hefe u. andere Pilze.* — Centralbl. für Bakter. etc. II Abt. 85, Bd. p. 118-197, 1912.
- BORDET J. et CIUCA M. — *Remarques sur l'histoire des recherches concernant la lyse microbienne transmissible.* — C. R. Soc. Biologie, Par., 84 vol. p. 745-747, 1921.
- BORDET. — *Le mécanisme de l'agglutination.* — Ann. Inst. Pasteur, t. XIII, p. 225, 1889.
- BORDET et CIUCA M. — *Sur la régénération du principe actif dans l'autolyse microbienne.* — C. R. Soc. Biologie, 1921, p. 1095.
- BOSSAERT. — *Etude sur l'agglutination comparée du vibron cholérique et des microbes voisins.* — Ann. Inst. Pasteur, t. XII, 1898.
- C. BOUCHARD. — *Influence qu'exerce sur la maladie charbonneuse l'inoculation du Bac. pyocyanique.* — C. R. Acad. d. Sciences, Par. 1889, CVIII, 713.
- BRIEGER et FRAENCKEL. — *Untersuchungen über Bakteriengifte.* — Berl. Klin. Wochenschr., 1890, n° 11 et 12.
- BROQUIN-LACOMBE A. — *Sur un pigment bleu du Bac. Mesent. niger.* — C. R. Soc. Biolog., 1913, 1^{er} sem., p. 331, vol. LXXIV.
- BROQUIN-LACOMBE A. — *Sur un caractère différentiel entre B. Mesenter. niger et B. lactis niger.* — C. R. Soc. Biologie, 1913. t. LXXV, déc., p. 598-600.

- CATELINEAU. — *Contribution à l'étude biolog. du bacille virid. Lesage.* — Ann. Inst. Pasteur, t. x, 1896, p. 228.
- CHABRIÉ. — *Über die Veränderungen einiger physikalischen-chemischen Eigenschaften der Nähr-Medien unter dem Einfluss des Wachstums diverser Mikroben.* — Centralbl. I. Abt. Ref. Bd. xxxiii, 1903, p. 88.
- CHANTEMESSE. — *Sur le phénomène de l'agglutination.* — Semaine méd. Paris, p. 303, 1897.
- CHARRIN et GUIGNARD. — *Action du Bac. pyocyane sur la Bactérie charbonneuse.* — C. Rend. Acad. d. Sciences, Par. 1889, t. cviii, p. 764-766, et France méd., Paris, 1889, p. 569-571.
- CHARRIN A. et ROGER H. — *Des modifications qu'on peut provoquer dans les fonctions d'un microbe chromogène.* — C. R. Soc. Biologie, t. iv, p. 596, 1887.
- CHESTER FREDERICK. — *A review of the Bacillus subtilis group of bacteria.* — Centralbl. f. Bakter. etc., Bd. xiii, 28 Dez. 1904, n° 24, Orig. II Abt.
- CLARK W. MANSFIELD M. A. Ph. D. — *The determination of hydrogen Ions.* — Second Edition. Baltimore Williams a Wilkins C° 1923.
- CLUZET, ROCHAIX, KOFMANN. — *Concentration limite en ions hydrogène, compatible avec le développement des cultures microbiennes.* — C. R. Soc. Biologie, LXXXIX, 1923, n° 33.
- DELEZENNE C. — *Les kinases microbiennes : leur action sur le pouvoir digestif du suc pancréatique vis-à-vis de l'albumine.* — C. R. Soc. Biologie, Paris LIV, 1902, p. 998-1001.
- DERNBY K. G. — *Studien über die proteolytischen Enzyme der Hefe und ihre Beziehungen zur Autolyse.* — Biochem. Zeitg. t. 81, p. 107, 1917.
- DERNBY K. G. — *Die proteolytischen Enzyme der Pinguicula vulgaris.* — Biochem. Zeitg., t. 80, p. 152, 1917.
- DISTASO A. — *Sur les microbes protéolytiques de la flore intestinale de l'homme et des animaux.* — Centralbl. I. Abt. Orig. Jena Bd. 59, p. 97-103, 1911.

- DUCLAUX E. — *Traité de microbiologie*. — Paris, Masson, t. 1. Microbiologie générale, p. 225-236-273, t. III, fermentation alcool. — 1898, 1900, p. 164.
- DUNHAM. — *A nephelometric method of estimating the number of organisms in a vaccine*. — Journal of immunol. Balt. vol 4, p. 337-337-343, 1920.
- DUTHOIT A. — *De l'action sur différents microbes du NaCl seul ou associé à d'autres sels*. — C. R. Soc. Biologie, t. 89, p. 553, 1923.
- DUTHOIT A. — *Action sur différents microbes du NaCl à divers taux de concentration*. — C. R. Soc. Biologie, 1923, p. 550.
- DUTHOIT A. — *De l'action sur différents microbes du NaCl à 9 ‰*. — C. R. Soc. Biologie, p. 548, 1923.
- EIJKMANN C. — *Über natürliche Wachstumshemmung der Bakterien*. — Centralbl. für Bakter. etc. I Abt, t. XLI, 2te Mitteilung, 1906, p. 367-369.
- EIJKMANN C. — *Über thermolabile Stoffwechselproducte als Ursache der natürlichen Wachstumshemmung der Mikroorganismen*. — Centralbl. f. Bakter. etc., Bd. xxxvii, I Abt. Orig. Heft 3, 1904.
- EISENBERG P. et VOLK R. — *Untersuchungen über die Agglutination*. — Zeitschrift f. Hygiene, tome XL, p. 155-194, 1902.
- EISENBERG P. — *Untersuchungen über halbspezifische Desinfektionsvorgänge: vitalfärbung, etc.* — Centralbl. für Bakter. etc. I. Abteilg. Orig. Bd. 71, 1913.
- EISENBERG P. — *Über die Variabilität des Schleimbildungsvermögens und der Gramfestigkeit*. — Centralbl. für Bakter. etc. I. Abt. Orig. Bd. 82, Heft 6.
- EISENBERG P. — *Über Säureagglutination von Bakterien und über chem. Agglutination im allgemeinen*. — Centralbl. für Bakter. etc. I Abt. Orig. Bd. 83, Heft I, p. 70, 1919.
- EISLER M. — *Über den Einfluss von Salzen u. Nicht. Electrolyten auf die Wirkung von lytischen Giften*. Zeitschr. f. Immunitätforsch. — 1909, II Orig. Jena, p. 159-204.

- EISLER M. — *Über Wirkungen von Salzen auf Bakterien.* — Centralbl. f. Bakter. etc. Abt. I Orig. Bd. 51, Jena 1909, Heft 5, S. 546-563.
- EMMERICH U. LOEW. — *Bakteriolytische Encyme als Ursache der erworbenen Immunität.* — Zeitschr. f. Hyg. V. 31, p. 1, 1889.
- ENGEL. — *Die Diagnose der Vibrionen mit Hilfe des Chrysoidins.* — Centralbl. für Bakt. V. 21, 1897.
- FABICKI J. — *Contribution à l'étude des vaccins.* — Thèse doctorat en pharmacie, Nancy 1923, p. 14.
- FALTIN. — *Studien über Hetero-und Iso-Antagonismus.* — Centralbl. f. Bakter. etc., I. Abt. Orig. Bd. XLVI, Heft. I.
- FERNBACH A. — *Influence de la réaction du milieu sur l'activité des diastases.* — C. R. Soc. Biologie, t. 142, p. 285, 1906.
- FITZGERALD J. G. — *A biometrical study of the mucosus capsulatus group.* — Journal of infect. diseases, Chicago. Vol. xv, 1914, p. 268-278.
- FOSTER L. F. — *The relation of hydrogen ion concentration to the growth, viability and fermentative activity of streptococcus hemolyticus.* — J. Bacteriol., t. VI, p. 161, 1920.
- FRAENCKEL. — *Beiträge zur Kenntnis des Bakterienwachstums auf eiweissfreien Nährlösungen.* — Hygien-Rundschau, 1894, p. 769.
- DE FREUDENREICH E. — *Notes de laboratoires sur l'action du Bacpyocyane sur la Bactéridie charbonneuse.* — Annales de microg., Par. 1888-89, I. 465-469.
- FREYTAG. — *Über die Einwirkung concentr. NaCl Lösungen auf das Leben der Bakterien.* — Archiv. für Hygiene, II Bd., 1890, p. 60.
- FROUIN Albert et AGULHORN H. — *Action favorisante des sels de terres rares sur le développement du bacille tuberculeux.* — C. R. Soc. Biologie, Par., t. LXXVIII, mars 1915, p. 129-131.
- FROUIN A et ROUDSKY D. — *Action bactéricide et antitoxique des sels de lanthane et de thorium sur le vibron cholérique. — Action thérapeutique de ces sels dans le choléra expérimental.* — C. R. Académie d. Sciences, Par. CLIX, p. 410-413, 1914.

- FROUIN A. et LEDEBT S. — *Action agglutinante et antihémolytique des sels des terres rares.* — C. R. Soc. Biologie Par. LXXII, p. 1038, I, 1912.
- FROUIN. A. — *Influence des sels d'uranium et de thorium sur le développement des bac. tuberc.* — C. R. Soc. Biologie, T. LXXIV, p. 282, 8 février 1913.
- FROUIN Alb. et LEDEBT S. — *Action du vanadate de soude et des terres rares sur le développement du B. pyocyaneus et la production de ses pigments.* — C. R. Soc. Biologie, t. LVXII p. 981-933, 1912.
- FROUIN Alb. et LEDEBT S. — *Action du vanadate de soude et des terres rares sur le bacille tuberculeux.* — C. R. Soc. Biologie t. LXXII, p. 1034, 1912.
- GAIDUKOW. — *Über die ultramikroskop. Untersuchung der Bakterien.* — Centralbl. für Bakter. etc. II Abteil. Bd 16, 1906.
- GATES. — *A method of standardizing bacterial suspensions.* — Journal of experim. medic., vol 31, p. 105, 1920.
- GAUCHER. — *Sur quelques bactéries chromogènes isolées d'une eau de source.* — Centralbl. für Bakter. etc. Abt. II, 11, 1904, p. 721-723.
- Louis GAUCHER et FAURE-GEORS. — *Sur quelques propriétés du Bac. Subtilis.* — C. R. Soc. Biologie, 1914, janvier, p. 229.
- P. GEORGEWITCH. — *Note préliminaire sur la formation et la germination des spores du Bacillus termophilus Fivvini nov. sp.* — C. R. Soc. Biologie, t. LXVII, 18 mars 1910.
- GESSARD C. — *Diagnose pigmentaire du Bac. pyocyanique.* — Annales Inst. Pasteur, t. XXXIII, p. 240, 1919.
- GESSARD C. — *Essai sur la biologie du pyocyaneus.* — Annales Inst. Pasteur, 1902.
- GIRARDET F. — *Bulletin Soc. des Sciences, Nancy, 4^e série, tome XI, p. 37, 1924.*
- GODOY Dr. — *De la germination des spores : étude quantitative.* — Mémoires de l'Institut Oswald Cruz, t. II, fasc. 1, Rio de Janeiro, Avril 1910.
- GOTTHEIL. — *Botanische Beschreibung einiger Bodenbakterien.* — Centralbl. f. Bakter. etc. II Abteilg. VII, Bd. 1901.

- GRATIA et RHODES. — *De l'action lytique des staphylocoques vivants sur les staphylocoques tués.* — C. R. Soc. Biologie, t. 90, p. 640, 1924.
- GRATIA A. — *Influence de la réaction du milieu sur l'autolyse microbienne transmissible.* — C. R. Soc. Biologie, t. 84, p. 275, 1921.
- GRATIA A. et SARA DATH. — *De l'action bactériolytique des Streptothrix.* — C. R. Soc. Biol. t. xcii, 1925, p. 1125.
- GRATIA A. et S. DATH. — *Moisissures et microbes bactériophages* — C. R. Soc. Biologie, t. xcii, 1925, p. 461.
- GRETHE. — *Über die Keimung der Bakteriensporen.* — Fortschritte der Medezin, Bd. xix, 1897.
- GRIMBERT L. — *Fermentation anaerobie produite par le Bacillus orthobutyricus.* — Annales Institut Pasteur, t. vii, p. 353, 1893.
- GRIMBERT L. — *Fermentation anaerobie produite par le Bacillus orthobutyricus : ses variations sous certaines influences biologiques.* — Thèse Sciences physiques, Par. 1893, 82 pages.
- GRUBER. — *Beitrag zur Identifizierung des Bac. mesenter. ruber.* — Kiel : Arb. Versuchstat. Molkereiw. H. 5, 1907, p. 126-129. Ref. Centralbl. für Bakterien etc., II Abt. Bd. xvi, 1906, p. 644-646.
- GRUNER et FRASER. — *Observations on bacillus mesentericus and allied organisms.* — Journal of infectious diseases. 1912, vol. x, January, p. 210.
- GUIGNARD et CHAGRIN. — *Sur les variations morphologiques des microbes.* — C. R. Acad. Sciences, p. 1192, 1882.
- GUILLEMARD H. — *Diversité de la résistance des bactéries à la pression osmotique.* — C. R. Soc. Biologie, t. 67, p. 538-540, 1909.
- GUILLIERMOND A. — *Contribution à l'étude cytologique des bacilles endospores.* — Arch. f. Protistenkunde, t. xii, f. 1., 1908, p. 943.
- GUILLIERMOND A. — *Quelques remarques sur la structure des bac. endospores.* — C. R. Soc. Biologie, 62, 1907, p. 78-80.

- HATTINGER. DR. Rob. — *Beitrag zur Theorie der Färbung nach Gram*. — Centralbl. für Bakter. I. Abteilg. Orig. Bd. 76, Heft. 5.
- HEITZ J. — *Le phénomène de l'agglutination*. — Thèse pharmacie Nancy, 268 pages, 1920.
- HENRI. V. — *Cours de chimie physique*. — Paris, Hermann.
- HENRIQUES O. M. — *Technique de la numération des Bactéries*. — C. R. Soc. Biolog., Par., t. 88, p. 819, 1923.
- D'HÉRELLE. F. — *Le bactériophage, son rôle dans l'immunité*. — Monographies de l'Institut Pasteur, 227 pages, Masson et C^{ie}, éditeurs, Paris, 1921.
- HÆBER. — *Physikalische Chemie der Zelle und der Gewebe*. — Leipzig, 1922, Wilhelm Engelmann, p. 375-437-416-420-485-532.
- HOLZMULLER K. (Heidelberg). — *Die Gruppe des Bacillus mycoides*. — Centralbl. f. Bakterien etc. XXIII Bd. II Abteilg., 1909 p. 304-354.
- JAVILLIER M. et SAUTON B. — *Le fer est-il indispensable à la formation des conidies de l'Aspergillus niger ?* — C. R. Acad. Sciences, t. 153, p. 1177, 4 déc. 1911.
- JOHNSON J. Ch. — *The morphology and reaction of Bac. Megatherium*. — Centralbl. für Bakter. etc. II t. XXV, n^o XI-XIII, 16 sept. 1911.
- JORDAN. — *Bac. pyocyaneus and its pigments*. — Journal of experim. medic., p. 633, 1899.
- JORNS. — *Über das Wachstum der Bakterien in und auf Nährböden höherer Konzentration*. — Arch. f. Hygiene. Bd. 63, 1907, Heft 2.
- KARAFFA-KORBUTT. — *Zur Frage des Einflusses des Kochsalzes auf die Lebenstätigkeit der Mikroorganismen*. — Zeitschr. f. Hygiene, tome 71, p. 161, 1912.
- KELLERMANN. — *Studies of the Subtilis group*. — Science N. Y. a Lancaster. n. s. XXXVIII, p. 372, 1913.
- KENDAHL AND FARMER. — *Studies in bacterial metabolisme*. — Journal of biolog. chem., vol. 12, 1912, p. 215.

- KIESEL A. — *Sur l'action de divers acides et sels acides sur le développement de Aspergillus niger.* — Annales Institut Pasteur, 27, p. 391, et 481, 1913.
- KIESEL. — *Sur l'action de divers sels acides sur le développement de l'Aspergillus niger.* — C. R. Acad. Sciences, t. CLV, p. 193, 1912.
- KOPACZEWSKI W. — *Théorie et pratique des colloïdes en Biologie et en Médecine.* — Paris, Vigot frères, éditeurs, p. 222-234, 1923.
- KROMPECHER. — *Untersuchungen über das Vorkommen metachrom. Kärnchen bei sporentragenden Bakterien.* — Centralbl. f. Bakter. I. Orig. Bd. xxx, p. 425.
- KUFFERATH. — *Action de la gélatine à diverses concentrations sur les levures.* — Centralbl. für Bakter. etc., II Abteilg. 42 Bd, 1915, p. 557.
- KUNTZ. — *Ein Beitrag zur Kenntnis der Bedingungen der Farbstoffbildung des bac. prodigiosus.* — Zeitschr. f. Hygiene, xxxiv, 1900, p. 169.
- KUSTER. — *Über chem. Beeinflussung der Organismen durcheinander.* — Vorträge u. Aufsätze der Entwicklungsmechanik der Organismen, Dr Roux, Leipzig, Engelmann Heft vi.
- LAFFORGUE. — *Recherches sur le bacillus mesenteric. vulg.* — Arch. de medic. expér. et d'anatomie patholog., t. xxv, p. 323, 1913.
- LAFFORGUE. — *Cultures homogènes du Bac. mesentericus.* — C. R. Soc. Biologie, t. LXII, p. 1177 et 1195, 22 et 29 juin 1907.
- LAFFORGUE. — *Cultures homogènes du Bac. mesentericus obtenues in vitro.* — C. R. Soc. Biologie, t. LXII, p. 884, 18 mai 1907.
- LAMBOTTE et BOSSAERT. — *Recherches sur les substances chimiques agglutinantes.* — Bullet. acad. roy. de méd. de Belgique, n° 8, 1897.
- LASSEUR Ph. — *Contribution à l'étude de Bacillus chlororaphis G. et S.* — Thèse Sciences naturelles, Nancy, 1911, p. 65-82.
- LASSEUR Ph. — *Le Bacillus chlororaphis. — Influence du fer sur la production de la chlororaphine.* — C. R. Soc. de Biologie. t. LXX, p. 154, 1911.

- LASSEUR Ph. — *Influence du fer sur la végétation et la coloration des cultures de diverses bactéries.* — Réunion biolog. de Nancy, séance du 17 février 1913.
- LASSEUR Ph. — *Observation sur le pouvoir chromogène de quelques Bactéries.* — Recueil publié à l'occasion du jubilé scientifique du Prof. G. Le Monnier. Berger-Levrault, Nancy, p. 106, 1913.
- LASSEUR Ph. — *Sur l'extraction des pigments bactériens.* — C.R. Soc. Biolog., t. LXXVI, p. 819, 1914.
- LASSEUR Ph. — *Contribution à l'étude du Bacillus Le Monnieri nov. spec. (note préliminaire).* — C. R. Soc. Biologie, t. LXXIV, p. 47.
- LASSEUR Ph. et THIRY G. — *Sur les cultures colorées de bactéries considérées jusqu'à présent comme achromogènes.* — C. Rendus Acad. Sciences, t. CLVI, p. 166, 1913.
- LASSEUR Ph. et GIRARDET F. — *L'eau pure en Biologie.* — Bulletin de la Société de Chimie biologique, t. VI, n° 4, avril 1924, p. 314-325, 1924.
- LASSEUR Ph. et SPILLMANN L. — *Réactions Anticorps : étude quantitative de la fixation de l'alexine.* — Fascicule I, 1921, Nancy, Berger-Levrault.
- LASSEUR Ph. et THIRY G. — *Nouvelles colorations présentées par certains micro-organismes cultivés en milieux synthétiques.* — C. R. Soc. Biologie, t. LXXIV, p. 163, 1913.
- LASSEUR Ph. et VERNIER P. — *Contribution à l'étude de Bacillus Le Monnieri-Lasseur.* — Bulletin de la Société des Sciences de Nancy, série IV, tome II, fascicule 2, juillet 1923-mai 1924, p. 73-131. 4 planches, dont une en couleur.
- LAZARUS E. — *Sur la protéolyse de la Bactéridie charbonneuse.* — Ann. Inst. Pasteur, t. XXIII, p. 577-594, 1910.
- LEGROS. — *Action sur l'organisme des pigments microbiens.* — Semaine médicale, n° 46. 1900.
- LEGROS. — *Action des pigments microbiens.* — C. R. Soc. Biologie, n° 33, p. 900, 1900.

- LEVADITI. — *La tripanotoxine du Bac. subtilis*. — C. R. Soc. Biolog. 1912.
- LEWANDOROWSKY. — *Über das Wachstum von Bakterien in Salzlösungen von hoher Konzentration*. — Arch. f. Hygiene, XLIX, 1904, p. 47.
- LISBONNE et CARRÈRE. — *Influence des électrolytes sur la lyse microbienne transmissible*. — C. R. Soc. Biolog., Paris, t. XXXIX, p. 865, 1923.
- LODE. — *Experimentelle Untersuchungen über Bakterienantagonismus*. — Centralbl. f. Bakter. etc., I Abt. Orig. 1903, Bd. XXXIII, p. 196.
- LOEB. — *Über die Ursachen der Giftigkeit einer reinen NaCl Lösung und ihre Entgiftung durch K. u. Ca.* — Biochem. Zeitung, 2-81, 1906.
- LOEW. — *The physiological role of mineral nutrients*. — Bulletin U. S. Depart of Agricult. Washington, 1920, n° 18.
- LUNTH B. — *Bac. mesentericus niger : a new potatoe bacillus*. — Centralbl. f. Bakt, 2te Abteilg., 1896, p. 572.
- MALVOZ. — *Die Diagnose der Vibrionen mit Hilfe des Chrysoidins*. — Centralbl. für Bakter, Jena Bd. v. 21, 1897.
- MALVOZ. — *Sur la présence d'agglutinines spécifiques dans les cultures microbiennes*. — Annales Institut Pasteur, t. XIII, p. 630, 1899.
- MALVOZ. — *Recherches sur l'agglutination de B. typhosus par des substances chimiques*. — Annales Institut Pasteur, t. XI, p. 582, 1897.
- MALFITANO G. et CATOIRE M. — *Le rôle du fer dans la protéolyse de l'Aspergillus niger*. — C. R. Société Biologie, p. 861, t. XCI, 1924.
- MALFITANO G. et STRADA. — *Des influences qui peuvent faire varier le pouvoir protéolytique des liquides en contact avec les bactéries du charbon*. — C. R. Soc. Biologie, t. LVII, p. 120-122, 1905.
- MALFITANO et STRADA. — *Des variations dans l'activité protéolytique des bactéries avec l'âge de la culture*. — C. R. Soc. Biologie, t. LVII, p. 195-197, 1905.

- MALFITANO G. et STRADA M. — *Evaluation du pouvoir protéolytique des Bactéries du charbon.* — C. R. Soc. Biologie, t. LVII, p. 118-120, 1905.
- MALFITANO G. et M^{lle} LAZARUS E. — *Influence de la concentration en peptone des milieux sur le pouvoir protéolytique de la bactérie charbonneuse.* — C. R. Soc. Biologie, t. LXIII, p. 761-763, 1907.
- MALFITANO G. — *De l'influence de l'oxygène sur la protéolyse en présence du chloroforme.* — Annales Inst. Pasteur, t. XVI, p. 853, 1902.
- MALFITANO. — *La protéolyse chez Aspergillus niger.* — Annales de l'Institut Pasteur, t. XIV, p. 60 et p. 420.
- MAMELLE A. — *Contribution à l'étude du Bacillus pyocyaneus erythrogenes Gessard.* — Thèse pharmacie, p. 97, Nancy 1919.
- MANCEAU. — *Bacille tuberculeux et sulfate de magnésie.* — C. R. Soc. Biologie, t. XCI, p. 255.
- MANTEUFFEL Fr. — *Das Problem der Entwicklungshemmung in Bakterienkulturen.* — Zeitschrift für Hygiene, 57 Bd. 1907.
- MARIE A. et TIFFENEAU M. — *Etude de quelques modes de neutralisation des toxines bactériennes.* — Annales Inst. Pasteur, t. XXII, p. 289, 299, 644, 659, 1908.
- MASSART J. — *Sensibilité et adaptation des organismes à la concentration des solutions salines.* — Archives de Biologie, t. IX, p. 515, 1889.
- METSCHNIKOFF E. — *Note sur le pléomorphisme des Bactéries.* — Annales Inst. Pasteur, t. III, p. 61 et 265, 1889.
- MICHAELIS. — *Die Sæureagglutination der Bakterien insbesondere der Typhusbazillen.* — Deutsche Med. Wochenschr., 1911, p. 969.
- MICHAELIS. — *Manuel de techniques de physico-chimie et spécialement de chimie des colloïdes traduit par H. Chabanier et C. Lobo-Onell.* — Masson et C^{ie}, éditeurs, Paris, Boulevard Saint-Germain, 120.

- MINES DE CAMBRIDGE G. R. — *Der Einfluss gewisser Ionen auf die electrische Ladung von Oberflæchen und ihre Beziehung zu einigen Problemen der Kolloidchemie und Biologie.* — Kolloidchem. Beihefte Bd. 111, 1911-1912, p. 191.
- MUHLSCHLEGEL. — *Über die Bildung und den Bau der Bakterien-sporen.* — Centralbl. für Bakter. etc., 1900, vi Bd., II Abteilg.
- NADSON G. A. et ADAMOVIC S. M. — *Über die Beeinflussung der Entwicklung des Bac. mycoides Flügge durch seine Stoffwechsel-producte.* — Bulletin du Jardin Impérial Botan. de Saint-Pétersbourg, t. x, livraison 5-6, 1910.
- NEIDE. — *Die Alkoholfärbung der nach Gram gefärbten Bakterien als Speciesdiagnose in Verbindung mit einer Untersuchung der für die Gram Färbung in Betracht kommenden Faktoren,* — Centralblatt Bakteriolog., Jena Abt I, 35 Orig. (508-521). 1904.
- NEPVEUX F. — *Influence du fer sur le pouvoir chromogène de Bac. Bruntzii.* — C. R. Soc. Biologie, 11 mai 1920.
- NEPVEUX F. — *Une nouvelle espèce chromogène des eaux. - Bacillus Bruntzii.* — Thèse pharmacie Nancy, p. 136, 1920.
- NICOLLE M., CESARI E et JOUAN C. — *Toxines et antitoxines.* — Paris, Masson, éditeurs, 1919.
- NICOLLE M. — *Pratique des colorations microbiennes : Méthode de Gram modifiée et méthode directe.* — Annales Inst. Pasteur, t IX, 1895.
- NICOLLE M. — *L'autolyse.* — Annales Institut Pasteur, t. XXVII, p. 97-117, 1913.
- NICOLLE M. — *Action du Bacillus subtilis sur diverses bactéries* — Annales de l'Institut Pasteur, 1907, t. XXI, p. 613-621.
- NICOLLE et ADIL-BEY. — *Action de la bile sur le pneumocoque et diverses autres bactéries.* — Annales de l'Institut Pasteur, p. 1907, XXI, p. 20-25.
- POULESCO N. C. — *Action des sels des métaux alcalino-terreux sur la substance vivante.* — C. R. Acad. des Sciences, t. CXXXVIII, p. 1728-1730. C. R. Acad. Sciences, t. CXXXIX, p. 158-160, 1904.

- PÉJU G et RAJAT H. — *Vue d'ensemble sur l'action du jodure de K. facteur de polymorphisme chez les bactéries.* — C. R. Soc. Biologie, t. LVIII, p. 225, 1906.
- PÉNEAU H. — *La cytologie du Bac. megatherium.* — C. R. Acad. Sciences., t. CLII, 3 janv. 1911, p. 53-56.
- POPPE K. — *Die Sæureagglutination der Bakterien der Paratyphus-gruppe.* — Zeitschr. für Immunitätsforsch. Orig. t. XIII, p. 185-191, 1913.
- POPPE K. — *L'agglutinabilité des bacilles du groupe paratyphique par les acides.* — Bulletin Institut Pasteur, p. 147, 1913.
- PREISZ DR HUGO. — *Untersuchungen über die Keimung der Bakteriensporen.* — Centralbl. für Bakter. etc. I Abt. Orig. Bd. 82 Heft 5 p. 321-327, 1918.
- PROCA G. — *L'examen sur fond lumineux à l'ultramicroscope.* — C. R. Soc. Biologie, Paris, 1921, t. LXXXIX, p. 1027.
- RAYBAND. — *Influence du sulfate de calcium sur Aspergillus.* — C. R. Soc. Biologie, t. LXXXVII, p. 310, juin 1922.
- RAULIN J. (1870). — *Etudes chimiques sur la végétation.* — Thèse de doctorat, Sciences physiques, Paris, Masson, 1905.
- REMY. — *Sur l'Eberth inagglutinant des eaux.* — Ann. Inst. Pasteur, t. xv, p. 145, 1901.
- RETTGER. — *On the spore germination of the bac. subtilis and Bac. megatherium.* — Centralbl. f. Bakter. etc. Abt. II. 10. 1903, p. 433-438.
- RODET. — *De la variabilité dans les microbes.* — Paris, J.-B. Ballière, 1894.
- ROGER H. — *Action du Bacillus mesenter. vulg. sur l'amidon ; influence de la bile et des sels biliaires.* — Arch. de med. expérim. et d'Anat. pathol., 1913, t. xxv, p. 430.
- ROZE. — *Sur deux nouvelles bactériacés de la pomme de terre.* — C. Rendus Acad. Sciences, 1896, CXXII, p. 543-545.
- RUZICKA V. — *Die Cytologie der sporenbildenden Bakterien und ihr Verhæltis zur Chromidienlehre.* — Centralbl. f. Bakter. etc. II Abt. Bd. xxiii, n° 10-13, Jena 1909, p. 289-300.

- SAIDA D^r. — *Über die Veränderung der Bakterienzelle durch bakteriolytische Encyme.* — Zeitschr. für Hygiene, 1890.
- SAKKAROFF. — *Sur le rôle du fer dans les phénomènes de la vie et de la mort des cellules.* — Archives russes de pathologie, 1897, t. IV, p. 99.
- SAMKOW. — *Zur Physiologie des B. prodigiosus.* — Centralbl. f. Bakter. etc. II Abt. Bd XI, p. 305, 1903.
- SARTORY et LASSEUR. — *Quelques observations sur l'agglutination.* — Bulletin d. sciences pharmacol., 1915, XXII, p. 193-195, Paris.
- SAUTON B. — *Le fer est-il indispensable à la formation des spores de l'Aspergillus niger?* — Extrait des Comptes Rendus de Soc. Biologie, t. LXXI, p. 589, 9 déc 1911.
- SAUTON B. — *Influence du fer sur la culture de quelques moisissures.* — Annales de l'Inst. Pasteur, Déc. 1911, n° XII, p. 922.
- SAUTON B. — *Sur la sporulation de l'Aspergillus niger et de l'Aspergillus fumigatus.* — Annales de l'Institut Pasteur, 1913, t. XXVII, p. 328-335.
- SAUTON B. — *Sur la nutrition minérale du bacille tuberculeux.* — C. R. Acad. Sciences, 1912, p. 860, t. 155.
- SAUTON B. — *Action comparée du Bi et de quelques antiseptiques sur le bac. tuberculeux.* — C. R. Soc. Biologie, t. LXXVI, p. 66, janv. 1914.
- SCHROEDER. — *Beiträge zur Kenntnis der Stoffwechselproducte des bac. lactis aerogenes.* — Centralbl. f. Bakter., II, t. XI, p. 732, 1904.
- SCHMITT E. — *Contribution à l'étude de la coloration de Gram.* — C. R. Soc. Biologie, t. LXXXIII, 1^{er} mai 1920, p. 627.
- SCHWARTZ Robert. — *La chimie des complexes inorganiques.* — Traduit par Juliard (Dunod, éditeur, Paris), quai des Grands-Augustins, 47 et 49.
- SELIGMANN. — *Zur Bakteriologie des fadenziehenden Brotes.* — Centralbl. für Bakter. etc. I Abt. Orig. Bd. 83 Heft I, p. 39.

- SIMONINI. — *Einwirkung der seltenen Erden auf Bakterien.* — Centralbl. für Bakter. etc. I Abt. Orig. Bd. 75, Heft 5-6.
- SOKOLOFF Boris. — *Neutralisation des ions.* — C. R. Soc. Biologie, 1923, t. II, 89 vol., p. 622.
- SPERLICH. — *Über Salztoleranz, bezw. Halophilie von Bakterien der Luft Erde u. Wasser.* — Centralbl. für Bakter. etc. t. XXXIV, n° 14-17, 1912.
- STADLER Ed. — *Über die Einwirkung von Nacl auf Bakterien.* — Arch. für Hygiene, 1899. Bd. 35 S. 40.
- SULLIVAN. — *Syntetic culture media and the biochemistry of bacterial pigments.* — Journal of medical research., vol XIV, nov. 1905, p. 109-160. — Refer. Bulletin Inst. Pasteur, t. IV, p. 354, 1906.
- TIEGEM Ph. VON. — *Sur les spores de quelques bactéries.* — Bulletin Sté botan. de France, t. XXVI, p. 141-142, 1879.
- TOENISSEN Dr. — *Über die Agglutination der Kapselbakterien.* — Centralbl. für Bakter. etc. I Abt. Orig. Bd. 75, Heft. 4.
- URBAIN et SENECKEL. — *Introduction de la chemie des complexes: théorie et systématique de la chimie des complexes minéraux.* — Librairie scientif. J. Hermann, Paris, rue de la Sorbonne, 6.
- VIGNAL. — *De l'influence du genre d'alimentation de bac. mesent. vulg. sur les diastases qu'il secrète.* — Archives de médec. expérim. et d'Anatomie pathol., 1889, p. 547-574.
- VIGNAL. — *Note sur une des diastases secrétée par le bacillus mesentericus vulg.* — C. R. Soc. Biologie, 1888.
- VIGNAL. — *Etude sur les bactériacés.* — Thèse de la Faculté des Sciences, 1889, le Bacillus mes. vulg., p. 20-26, 1889.
- VINCENT. — *Sur l'hémolysine du Bacillus megatherium.* Soc. de Biologie, t. LXVII, 1909, p. 195.
- WASSERZUG. — *Variations durables de la forme et de la fonction chez les bactéries.* — Annales Inst. Pasteur, t. II, p. 154, 1888.
- WASSERZUG. — *Sur la formation de la matière colorante chez le Bacille pyocyanique.* — Annales Institut Pasteur, t. I, p. 581-591, 1887.

- WAELE H. DE et VANDEVELDE A. J. — *Sur les ferments protéolytiques des microbes et une méthode d'évaluation quantitative de la liquéfaction de la gélatine.* — Centralbl. f. Bakter. etc., I Orig., Bd. xxxix, p. 353, 1905.
- WAELE H. DE — *Protéolase et antiprotéolase dans les cultures microbiennes.* — Bull. Acad. roy. de Médec. de Belgique, Bruxelles, 1908, 4 s., xxii, p. 847-854.
- WEIL RICHARD. — *Zur Biologie der Milzbrandbazillen.* — Archiv. für Hygiene, 1889, 35 Bd.
- WIDAL et NOBÉCOURT. — *Dissociation de la propriété immunisante et de la propriété agglutinante.* — C. R. Soc. Biologie, Paris 1897, 10 s. iv, p. 842-844.
- WINOGRADSKY. — *Sur le polymorphisme des bactéries.* — Annales de l'Inst. Pasteur, t. iii, p. 242-253, 1889.
- WOODHEAD et WOOD C. — *De l'action antidotique exercée par les liquides pyocyaniques sur la cause de la maladie charbonneuse.* C. R. Acad. d. Sciences, Paris 1889, cix, 985-988.
-

TABLE DES MATIÈRES

	Pages
INTRODUCTION	5
CHAPITRE I	
Généralités	9
CHAPITRE II	
Dimensions des Bactéries	15
a) Dimensions en milieu synthétique	20
b) Influence du $\text{SO}^4 \text{Mg}$ sur la morphologie.....	25
CHAPITRE III	
Culture en milieu synthétique ; Aliment minéral	27
a) Influence du $\text{SO}^4 \text{Mg}$ sur la végétation	28
b) Rapport entre le Calcium et le Magnésium	29
c) Influence du $\text{SO}^4 \text{Mg}$ sur la croissance et la fonction chromogène	32
d) Education de la semence	37
e) Age de la culture et coloration	38
CHAPITRE IV	
Influence des filtrats de jeune culture sur la végétation.	
Action favorisante des filtrats	39
CHAPITRE V	
Action des filtrats provenant de vieilles cultures	53
a) Action de <i>Bac. mesentericus</i> sur d'autres germes	53
b) Action des filtrats provenant de <i>B. pyocyaneus</i> , <i>B.</i> <i>proteus</i> et <i>Staphylococcus aureus</i> sur d'autres germes.	60
c) Action des électrolytes sur le pouvoir bactériolytique des filtrats.	73
d) Action des filtrats sur la colorabilité des plastides	79
CHAPITRE VI	
Pouvoir bactéricide de l'eau distillée et de différentes solu- tions salines	87
CHAPITRE VII	
Précipitation des plastides bactériennes par les électrolytes	93
CHAPITRE VIII	
Conclusions générales	127
CHAPITRE IX	
Index bibliographique	133

Vu et bon à imprimer :

Nancy, le 18 Juin 1925.

LE DOYEN DE LA FACULTÉ DE PHARMACIE,

L. BRUNTZ.

Vu et permis d'imprimer :

Nancy, le 20 Juin 1925.

LE RECTEUR DE L'ACADÉMIE,

CH. ADAM,

Membre de l'Institut.



